

Université de Montréal

**Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique des inputs  
musculaires lors de la locomotion fictive**

par

**Ariane Ménard**

Département de Physiologie

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des Études Supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Philosophiae Doctor (Ph.D.)

en Sciences Neurologiques

Septembre 2001

©Ariane Ménard 2001



W  
4  
U58  
2002  
4.002

Université de Montréal  
Faculté des Études Supérieures

Cette thèse intitulée:

**Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique des inputs  
musculaires lors de la locomotion fictive**

Présentée par:

**Ariane Ménard**

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Dr Vincent Castellucci ..... Président-rapporteur  
Dr Jean-Pierre Gossard..... Directeur de recherche  
Dr Trevor Drew..... Membre du jury  
Dr Abdeljabbar El Manira..... Examineur externe  
Dr Claude Alain ..... Représentant du Doyen de la FES

Thèse acceptée le: 6 Novembre 2001

## SOMMAIRE

L'information proprioceptive est cruciale pour adapter la locomotion aux exigences de l'environnement. L'inhibition présynaptique est un mécanisme puissant de régulation de la transmission qui s'effectue au niveau des terminaisons intraspinales des afférences en les dépolarisant (PAD). Jusqu'à ce jour, les données sur le rôle de cette inhibition dans la transmission proprioceptive restent fragmentaires. On sait que le réseau des PADs reçoit une convergence multiple d'inputs provenant de fibres sensorielles et de voies descendantes mais on comprend mal comment cela fonctionne lorsque le générateur spinal locomoteur (CPG) est activé.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'interaction entre les inputs musculaires, cutanés et du CPG au niveau des voies de PADs dans les afférences proprioceptives les plus rapides i.e. les afférences de groupe I. Notre étude est la première à mesurer directement la modulation des PADs évoquées par des inputs sensoriels dans les afférences musculaires à l'aide d'enregistrements intra-axonaux. De plus, l'impact de cette modulation sur la transmission synaptique a été évaluée en enregistrant intracellulairement les réponses monosynaptiques excitatrices (EPSPs) évoqués par les afférences de groupe IA dans les motoneurones.

Dans un premier temps, nous avons montré que l'amplitude des PADs évoquées par un input musculaire est modulée selon les phases du cycle locomoteur par le CPG dans les afférences de groupe I. Étonnamment, plusieurs patrons de modulation ont été observés n'ayant aucun lien apparent avec l'identité périphérique des afférences. On

présume que, grâce à cette modulation d'inhibition présynaptique, la transmission des informations proprioceptives pourrait être ajustée spécifiquement pour chaque afférence de groupe I selon les phases du cycle locomoteur.

Dans un deuxième temps, nous avons montré que l'addition d'un input cutané aux PADs évoquées par un input musculaire pouvait soit en diminuer (le plus commun), soit en augmenter, l'amplitude mais de façon modeste dans les afférences de groupe I. L'input cutané pouvait de plus modifier les patrons de modulation qui étaient multiples. Enfin, les effets obtenus par la stimulation du peronier superficiel (SP), étaient plus importants que les autres nerfs cutanés (sural caudal et saphène) Ces résultats suggèrent que différents territoires cutanés pourraient jouer des rôles distincts sur l'inhibition présynaptique et ainsi réguler différemment la transmission des afférences proprioceptives.

Dans un troisième temps, nous avons montré qu'un input musculaire produisait l'inhibition présynaptique des EPSPs monosynaptiques des les motoneurones. De plus, un input musculaire pouvait changer le patron de modulation phasique des EPSPs. Enfin, en concordance avec notre deuxième étude, l'addition d'un input cutané a diminué, dans la plupart des cas, l'inhibition présynaptique des EPSPs (préférentiellement par SP) mais seulement dans certaines portions du cycle locomoteur.

Nos résultats suggèrent l'existence de sous-populations interneuronales dans les voies de l'inhibition présynaptique dont l'excitabilité est spécifiquement contrôlée par le CPG. Les inputs musculaires, cutanés et du CPG interagissent de manière complexe pour produire un patron de modulation particulier d'inhibition présynaptique dans chaque afférence de groupe I. Grâce à un tel système, le CPG pourrait modifier les patrons de

convergence d'inputs proprioceptifs sur les interneurons et donc changer leur excitabilité et leur fonction.

**Mots clés:** Dépolarisation des afférences primaires, réflexe d'étirement, sensori-moteur, mouvement, proprioception, générateur de patron central, électrophysiologie, intracellulaire, moelle épinière, chat.

## SUMMARY

Proprioceptive sensory feedback is crucial to adapt locomotion to the environment. Presynaptic inhibition is a powerful mechanism to regulate sensory transmission and is produced by the depolarization of intraspinal terminals of afferents (PAD). Detailed data on the role of this inhibition on proprioceptive feedback is still lacking. We know that the PAD network receives a multiple input convergence from sensory afferents and descending pathways but we do not really understand how this works when the central pattern generator (CPG) for locomotion is activated in the spinal cord.

This research is focussed on the interaction between muscle, cutaneous and CPG inputs onto PAD pathways contacting the fastest proprioceptive sensory fibres i.e. muscle group I afferents. This study is the first to measure directly the modulation of sensory-evoked PAD in identified muscle afferents by means of intra-axonal recordings. Moreover, the effect of such modulation on synaptic transmission was evaluated by intracellular recordings of the monosynaptic excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) evoked by group IA muscle afferents in motoneurons.

In our 1<sup>st</sup> study, we showed that PAD amplitude evoked by muscle input in group I afferents was phasically modulated by the CPG. Surprisingly, many patterns of modulation were obtained without apparent links to the peripheral identity of group I afferents. We presume that such modulation in presynaptic inhibition could adjust the proprioceptive transmission specifically for individual group I afferents according to the phases of locomotor cycle.

In our 2<sup>nd</sup> study, we showed that an additional cutaneous input could mostly reduce or enhance the amplitude of muscle-evoked PAD in group I afferents by a modest amount. The cutaneous input could also modify the multiple patterns of PAD modulation. Furthermore, inputs from the superficial peroneus (SP) nerve were more effective than those from sural caudal and saphenous nerves. Those results suggest that the different skin areas could play distinct roles on presynaptic inhibition and thus regulate differentially transmission of proprioceptive feedback.

In our 3<sup>rd</sup> study, we showed that muscle inputs produced a clear presynaptic inhibition of monosynaptic EPSPs in motoneurons. Moreover, they could change the pattern of phasic modulation in EPSP amplitude. Finally, in accordance to results from our 2<sup>nd</sup> study, addition of cutaneous inputs (preferentially SP) reduced, in most cases, the presynaptic inhibition of EPSPs but only in certain portions of the step cycle.

Overall, our results suggest the existence of different subsets of interneurons within the presynaptic inhibitory pathways which excitability is specifically controlled by the CPG. Muscle, cutaneous and CPG inputs interact in a complex way to produce particular patterns of modulation in presynaptic inhibition in individual muscle group I afferents. Such a system would allow the CPG to modify the convergence pattern of proprioceptive inputs onto spinal interneurons and thus change their excitability and their function.

**Key words:** Primary afferent depolarization, stretch reflex, sensori-motor, movement, proprioception, central pattern generator, electrophysiology, intracellular, spinal cord, cat.



# TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE .....	III
SUMMARY .....	VI
TABLE DES MATIÈRES .....	VIII
LISTE DES FIGURES .....	X
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	XI
REMERCIEMENTS .....	XII
DÉDICACE .....	XIII
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>1</b>
<b><u>1. Neurophysiologie du mouvement</u> .....</b>	<b>2</b>
1.2 L'origine du mouvement .....	2
1.2.1 Mouvements volontaires vs réflexes .....	2
1.2.2 Générateur de patron central .....	4
1.2.3 La locomotion comme argument d'étude .....	6
<b><u>2. L'acte locomoteur</u> .....</b>	<b>8</b>
2.1 Évolution d'une hypothèse .....	8
2.2 Contrôle de la locomotion .....	11
2.3 Composante sensorielle de la locomotion .....	13
2.3.1 Action réflexe affectant la rythmogenèse .....	13
2.3.1.1. Inputs des extenseurs .....	16
2.3.1.2. Inputs des fléchisseurs .....	18
2.3.1.3. Implications fonctionnelles .....	20
2.3.2 Action réflexe affectant l'amplitude de l'activité musculaire. . . . .	21
<b><u>3. Modulation de la transmission sensorielle</u> .....</b>	<b>24</b>
3.1 Exemple de modulation d'une voie réflexe .....	24
3.2 Niveau motoneuronal .....	25
3.3 Niveau interneuronal .....	26
3.4 Niveau des afférences primaires .....	29
<b><u>4. L'inhibition présynaptique</u> .....</b>	<b>32</b>
4.1 Rôles .....	32
4.2 Données précédentes .....	33
4.2.1 Manifestations électrophysiologiques associées à l'inhibition présynaptique .....	34
4.2.2 Preuve de l'existence d'une inhibition présynaptique .....	36
4.2.3 PAD et inhibition présynaptique .....	37
4.2.4 Données histologiques et pharmacologiques des contacts axo- axoniques .....	38
4.3 Mécanisme d'action de la synapse GABAergique .....	40
4.4 Interneurones de la voie des PADs .....	43
4.5 L'organisation des voies de PADs .....	44
4.5.1 Sources d'activation .....	44
4.5.2 Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique .....	50
4.6 Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique lors de la locomotion . . .	51
<b><u>5. Projet de recherche</u> .....</b>	<b>54</b>

<b>ARTICLE #1 The modulation of presynaptic inhibition in single muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat</b> .....	57
Abstract .....	58
Introduction .....	59
Method .....	61
Results .....	67
Discussion .....	75
Acknowledgements .....	81
References .....	82
Figures .....	93
<b>ARTICLE # 2 Sensory integration in presynaptic inhibitory pathways during fictive locomotion in the cat</b> .....	100
Abstract .....	101
Introduction .....	103
Materials and methods .....	106
Results .....	110
Discussion .....	116
Acknowledgements .....	121
References .....	122
Figures .....	130
<b>ARTICLE # 3 The modulation of monosynaptic transmission by presynaptic inhibition during fictive locomotion in the cat</b> .....	136
Abstract .....	137
Introduction .....	139
Methods .....	143
Results .....	148
Discussion .....	157
Acknowledgements .....	165
References .....	166
Figures .....	178
<b>DISCUSSION GÉNÉRALE</b> .....	187
1. Récapitulation des résultats .....	188
2. Sélectivité de l'inhibition présynaptique .....	194
3. Considérations fonctionnelles .....	198
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	201

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1:** Schémas des circuits réflexes régulant la phase d'appui lors de la locomotion chez le chat. (p. 15)

**Figure 2:** Représentation schématique d'un axone présynaptique inhibiteur établissant un contact axo-axonique avec la terminaison d'une afférence primaire faisant synapse avec un motoneurone. (p.41)

**Figure 3:** Sources sensorielles dépolarisant les afférences musculaires de groupe IA (A) et IB (B). (p.46)

**Figure 4:** Schématisation des trois patrons de réponses produits dans les afférences musculaires de groupe I. (p. 47)

**Figure 5:** Schématisation des voies de PADs sous étude. (p. 56)

**Figure 6:** Diagramme illustrant la division des interneurons des PADs en sous-populations en fonction de leurs sources d'activation. (p. 189)

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**CPG:** générateur de patron central

**DRP:** potentiel de racine dorsale

**DRR:** réflexe de racine dorsale

**ENG:** électroneurogramme

**EMG:** électromyogramme

**EPSP:** potentiel postsynaptique excitateur

**FRA:** afférences du réflexe de flexion

**GABA:** acide gamma amino butyrique

**L-DOPA:** L-3,4-Di-hydroxyphenyl-alanine méthyle ester

**MLR:** région locomotrice mésencéphalique

**PAD:** dépolarisation des afférences primaires

**SP:** péronier superficiel

## REMERCIEMENTS

Je remercie les membres de mon jury d'avoir bien voulu étudier cette thèse et ce, à l'intérieur d'un si court délai.

Je remercie le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie (CRSNG) ainsi que le Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ) pour avoir financé mes études supérieures.

Merci à mon directeur de thèse, Jean-Pierre Gossard, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir inculqué ses connaissances. Il a su repousser mes limites et calmer mes insécurités. C'est bien grâce à lui que toute cette aventure a pu "marcher". Je lui suis très reconnaissante.

Merci à mes collègues de travail, notamment à Hugues, Marie-Pascale, Laurent et Naguib, qui m'ont enrichie de leurs sciences, conseils et sourires. Ils sont pour moi une source de réconfort.

Merci à France Lebel, Hélène Dussault, Robert Cartier et Denis Sasseville pour leurs supports techniques de qualité et leur amabilité.

Merci à mon amoureux, ma famille et amis (es) de m'avoir supportée (autant dans le sens de "endurée" que de "encouragée") pendant ces années d'étude à temps très plein.

Merci à Amadou et Mélopée qui m'offrent quotidiennement le pardon de la race féline.

*À mon Éloi d'amour*

## **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

## **1. NEUROPHYSIOLOGIE DU MOUVEMENT**

---

À chaque stade de progression de la compréhension de la nature du contrôle de nos actes par le système nerveux, le mouvement fut présent comme indice privilégié. En effet, la production motrice s'observe, se mesure, s'enregistre et fut donc le passage obligé de toute la physiologie nerveuse du 19<sup>e</sup> siècle. On s'intéressa donc très tôt à l'organisation neurale responsable de la fonction motrice et on s'y intéresse toujours comme le prouve la présente thèse. Ce premier chapitre se veut une note historique qui retrace l'origine et l'évolution de certaines notions qui sont les prémisses de la présente thèse. Nous tenterons ici de situer la locomotion dans l'organisation neurale de la fonction motrice et de justifier notre intérêt face à la place de l'input sensoriel vis-à-vis la genèse de l'output moteur.

### **1.2 L'origine du mouvement**

#### ***1.2.1 Mouvements volontaires vs réflexes***

Selon l'expertise historique de Jeannerod, "le mouvement involontaire fut une véritable brèche dans l'édifice de l'homme raisonnable par où le côté machinal de la motricité animale s'infiltra sur le terrain de l'âme elle-même"(Jeannerod 1983). Cette



nature automatique des mouvements fut démontrée, entre autres, par les expériences faites sur des animaux décortiqués de façon chronique qui, bien que restant normalement inanimés, pouvaient produire des mouvements complexes, tel que la locomotion ou l'alimentation, suivant la présentation d'un stimulus sensoriel approprié. Ces observations eurent comme conséquence l'attribution du siège des mouvements automatiques à la moelle épinière et l'association des mouvements volontaires aux mouvements spontanés i.e. ne requérant pas de stimulus sensoriel déclencheur évident (Jeannerod 1983; Brazier 1988).

Par la suite, l'existence même des mouvements de type volontaire fut questionnée. La fonction motrice peut en effet se concevoir comme pur instrument d'adaptation à l'environnement, ce qui privilégie le mode de fonctionnement réflexe comme explication généralisée du comportement. Le concept du réflexe fut élaboré par Prochazka dès 1779 (tiré de Jeannerod 1983). En faisant l'analogie à la réflexion d'un faisceau lumineux dans un miroir, il le décrivait comme étant un mouvement observé en réaction à une excitation. Par la suite, en résolvant la question du sens de la circulation de l'information dans les racines dorsale et ventrale de la moelle épinière, Bell et Magendi, en 1822, firent du système nerveux central une interface qui convertit les inputs sensoriels en output moteurs appropriés (tiré de Prochazka et al. 1999). En 1863, Setchenov alla même, au péril de sa vie, jusqu'à proclamer que la volition n'était qu'illusoire (tiré de Brazier 1988). Étant donné que pour lui, un stimulus pouvait être longuement préservé à l'état latent dans un centre nerveux, tout mouvement était prédit par l'historique des événements antérieurs, les inputs sensoriels et les idées qui leur étaient associées.

Dans la même veine de pensée, en 1879 Foster écrivait: "reflex action may be said to be, par excellence, the function of the spinal cord". Mais il ajouta: "Now it must be an economy to the body, that the will should make use of the mechanisms already present, by acting directly on their centres, rather than it should have recourse to a special apparatus of its own of a similar kind" (tiré de Hultborn 2001). Cette opinion n'est pas très loin de celle de Sherrington qui, entre 1895 et 1900, introduisit le concept des interneurones (tiré de Jeannerod 1983). Selon lui, ceux-ci joueraient un rôle d'aiguilleur dirigeant l'excitation sur les motoneurones appropriés. Ce faisant, en fonction de l'action à exécuter, ils permettraient à des structures supérieures de contrôler le réflexe spinal. Avec un tel contrôle supraspinal des éléments moteurs, l'organisme n'était plus soumis à l'ordre de la nature mais imposait plutôt son ordre à l'environnement.

### ***1.2.2 Générateur de patron central***

Suite à ces observations cliniques, le neurologue J.H. Jackson (1884) développa son concept d'automatisme consistant à échelonner les mouvements selon un continuum allant des plus automatiques ou primitifs vers les moins automatiques ou plus évolués. Il voyait la pathologie comme une inversion des processus d'évolution et affirmait que les mouvements les plus primitifs, émanant de centres inférieurs tel que la moelle épinière, étaient démasqués chez l'homme lorsque ses centres supérieurs étaient endommagés. À cette époque débutait une très longue controverse concernant cette capacité des

centres inférieurs à produire des mouvements automatiques. D'une part, on retrouvait les partisans pour qui le comportement moteur même le plus complexe, tels le grattage ou la locomotion, n'était que l'addition de réflexes simples. D'autre part, il y avait ceux croyant que les mouvements rythmiques étaient issus de générateurs nerveux intrinsèques à ces centres inférieurs (Jeannerod 1983; Brazier 1988; Marder et Calabrese 1996; Prochazka et al. 1999).

Pour mettre fin à cette controverse, il fallait une démonstration des plus solides de l'existence d'un générateur de patron central (CPG) soit la conservation des aspects normaux du patron moteur à l'étude, en l'absence de toute rétroaction sensorielle induite par le mouvement. Au fil des investigations, trois stratégies expérimentales majeures ont été décrites pour éliminer les inputs sensoriels qui pourraient être responsables de la genèse du patron moteur. La première consista en une dé-afférentation par section des axones sensoriels. Cette stratégie a été utilisée par Graham-Brown (1911) qui montra chez le chat spinalisé que les caractéristiques essentielles du patron locomoteur pouvaient être générées suite à la rhizotomie complète des racines dorsales (tiré de Grillner 1981). Une deuxième stratégie développée pour empêcher toute rétroaction sensorielle consista à empêcher tout mouvement grâce à une dé-efférentation produite par le blocage chimique des récepteurs acétylcholinergiques de la plaque motrice au niveau des fibres musculaires squelettiques par le curare. Dans cette condition, l'enregistrement de l'activité des nerfs (ENG) permet d'identifier un patron moteur produit par des mécanismes centraux, qu'on qualifiera de "fictifs" puisque l'animal paralysé ne peut produire de mouvements. Finalement, certains investigateurs ont développé des préparations in vitro où le système nerveux retiré de l'organisme baigne dans une solution physiologique et donc, où tout mouvement, rétroaction sensorielle et artefact, caractéristique d'une

préparation intacte sont impossibles mais où l'on retrouve une locomotion fictive (Stein 1999).

La démonstration de l'existence des CPG et la forte correspondance entre les patrons moteurs fictifs et ceux observés chez l'animal en action (Grillner et Zanger 1975) ont fait en sorte que plusieurs investigateurs ont par la suite négligé l'importance du façonnage sensoriel du patron. Pourtant on ne peut nier l'importance des réponses sensorielles dans la régulation de l'output moteur. Un des rôles de la rétroaction sensorielle est de mesurer les propriétés mécaniques de l'organisme et son interaction avec son milieu et c'est pourquoi les réflexes sont un moyen d'adapter les mouvements aux contraintes physiques de l'environnement (Cohen 1992; Marder et Calabrese 1996; Stein 1999).

### ***1.2.3 La locomotion comme argument d'étude***

La locomotion est une des composantes primordiales des comportements exploratoires, défensifs et d'alimentation qui sont au coeur de la vie animale. Les différentes formes de locomotion, tels la nage, le vol ou la marche issus du phénomène d'évolution ont gardé la caractéristique commune d'être des mouvements rythmiques et alternés du corps ou de ses membres (Kandel et al. 2000). Plus d'un ont été intrigués par la facilité avec laquelle nous exécutons cette performance motrice dans notre vie quotidienne et trop ont goûté combien il peut être coûteux de perdre cette aptitude.

L'intérêt de mieux connaître la genèse et le contrôle de ce patron rythmique stéréotypé chez le mammifère fût donc évident, mais c'est la possibilité d'activer la circuiterie responsable de la locomotion dans une préparation réduite de mammifère qui fut la percée importante qui amena plusieurs chercheurs à se tourner vers l'étude de ce patron moteur (Cohen 1992; Stein 1999). La première technique découverte chez le chat dans les années '60 consistait en une stimulation électrique d'une région spécifique du mésencéphale (mesencephalic locomotor region, MLR) (Shik et al. 1966) alors que la seconde consistait en la stimulation des afférences de certains nerfs périphériques chez un animal spinalisé ayant été injecté avec de la Nialamide et la L-Dopa (Jankowska et al. 1967ab). Ces préparations permettaient enfin d'étudier les interactions entre le CPG et les inputs supraspinaux et sensoriels choisis par l'expérimentateur.

## **2. L'ACTE LOCOMOTEUR**

---

Un des aspects de la locomotion qui justifie la présente étude est la régulation de ce patron moteur par les inputs proprioceptifs. Pour vous permettre de juger de tout l'impact de cette régulation, nous vous présenterons d'abord sa cible qui est l'organisation neurale du CPG qui génère le patron locomoteur puis les éléments sensoriels à l'étude soit les afférences musculaires de groupe I. Vous trouverez ainsi tous les arguments qui motivent notre choix de faire l'investigation de la transmission de ces inputs spécifiques à conduction rapide qui sont parmi les premiers à atteindre les réseaux spinaux.

### **2.1 Évolution d'une hypothèse**

Au début du vingtième siècle, les expériences de Graham-Brown (1911) démontrèrent la capacité de la moelle épinière, isolée des centres supérieurs et dépourvue d'inputs sensoriels, à générer des contractions rythmiques et alternées des muscles extenseurs et fléchisseurs des pattes postérieures du chat (tiré de Grillner 1981). Ces résultats l'amènèrent à spéculer sur l'organisation nerveuse responsable de cette alternance et il émit l'hypothèse des demi-centres qui fut très influente pour les études subséquentes du réseau neuronal à la base de la locomotion (Stein1999). Selon cette hypothèse, il y aurait deux systèmes de neurones activés de façon égale, soit un demi-centre activant tous les fléchisseurs et un demi-centre activant tous les extenseurs. Les

deux demi-centres seraient interreliés par des connexions inhibitrices mutuelles et ainsi la moindre dominance d'activité dans l'un de ces systèmes inhiberait son réciproque. Suite à un certain maintien de cette inhibition, il y aurait suffisamment de "fatigue" accumulée pour que l'activation du deuxième système prenne le dessus sur le premier (Grillner 1981).

Cette hypothèse fut renouvelée par Lundberg et collaborateurs dans les années '60, suivant l'étude des effets de la L-Dopa sur le réflexe de flexion chez les chats spinaux. En temps normal, la stimulation des afférences musculaires et cutanées de petit calibre évoque un réflexe de flexion, d'où leur nom "afférences du réflexe de flexion" (flexor reflex afferent, FRA) de courte latence qui consiste en l'activation des fléchisseurs ipsilatéraux et des extenseurs controlatéraux avec inhibition réciproque des muscles antagonistes de chaque membre. Suivant l'administration de la L-Dopa, ces investigateurs notèrent une suppression du réflexe de flexion classique à courte latence et l'apparition d'un réflexe de flexion de longue latence et durée (late dopa reflex) possédant le même patron d'activation. De plus, ils observèrent qu'un train bref donné dans les FRA pouvait engendrer une courte séquence de rythmicité montrant une alternance dans l'activité des extenseurs et des fléchisseurs. Finalement, ils démontrèrent que l'activation du circuit excitateur des FRA ipsilatéraux aux fléchisseurs empêchait au même moment l'activation du circuit excitateur des FRA controlatéraux aux extenseurs et donc que ces deux circuits s'inhibaient de façon réciproque (Anden et al. 1966a,b; Jankowska et al. 1967a,b). À partir de ces trois observations, ils conclurent que l'organisation des voies FRA sous L-Dopa ressemblait fortement à celle des demi-centres proposée par Brown une quarantaine d'années plus tôt et qu'elle pourrait être la composante principale du CPG locomoteur.

Cependant, une telle organisation implique d'une part, une activité tonique produite par chacun des demi-centres lorsqu'indépendant l'un de l'autre et d'autre part, l'élaboration d'une alternance robuste entre tous les fléchisseurs et tous les extenseurs (révisé dans Stein et al.1998). Or, certaines observations montraient des inconsistances avec cette hypothèse. En effet, il fut observé chez le chat et la tortue qu'une rythmicité dans les muscles agonistes pouvait être concomitante à une inactivation des muscles antagonistes suggérant qu'un demi-centre pourrait être rythmique de façon indépendante. De plus, il fut décrit que, avec le secours de la rétroaction sensorielle, le patron locomoteur montrait une complexité plus grande qu'une simple alternance entre fléchisseurs et extenseurs. En fait, lors de la locomotion, certaines des synergies musculaires mises à profit sont mixtes i.e. qu'elles impliquent l'activation simultanée d'un fléchisseur et d'un extenseur au niveau de deux articulations. Aussi, il existe des muscles bi-fonctionnels qui agissent sur deux articulations et qui sont activés dans les deux phases du cycle locomoteur (Perret et Cabelguen1980).

Pour circonscrire à ces aspects, Perret et Cabelguen (1980) modifièrent de nouveau le concept du CPG. Ils proposèrent l'existence d'un réseau neuronal strictement responsable de la formation des patrons locomoteurs complexes sous-jacent la paire de demi-centres composant un simple générateur de rythme. Allant encore plus loin, Grillner suggéra l'existence de générateurs de bouffées unitaires (ou "units burst generator", UBG) et que chaque articulation posséderait des générateurs pour les fléchisseurs et les extenseurs qui seraient individuellement rythmogénétiques et mutuellement connectés.



Selon lui, ce serait l'assemblage de ces unités en des combinaisons spécifiques qui élaborerait les différents patrons moteurs tel que la locomotion ou le grattage (Grillner 1981). Ainsi, le CPG locomoteur ne serait plus distinct, mais partagerait plutôt des éléments avec d'autres CPGs (Hultborn 2001). Certaines observations sont d'ailleurs en faveur d'interneurones communs à la genèse de différents patrons moteurs rythmiques. En effet, il y a possibilité d'avoir deux patrons concomitants tel que la locomotion et le "secouement de la patte" (ou fast paw shake) mais non sans une altération des caractéristiques de la locomotion (Rossignol 1996). Aussi, des études faites chez la tortue ont montré que le patron de nage pouvait être réinitialisé par la promotion d'un épisode de grattage et inversement (Stein et al. 1998). Il est à noter que ces nouvelles hypothèses concernant l'organisation du CPG n'empêchent pas pour autant, dans un but légitime de simplicité, l'utilisation de la nomenclature d'origine (demi-centre extenseur et fléchisseur) encore commode de nos jours pour désigner les ensembles neuronaux au centre de l'inhibition réciproque et de la rythmogenèse ainsi que pour tester certaines hypothèses.

## **2.2 Contrôle de la locomotion**

Classiquement, le système de contrôle de la locomotion est défini comme étant hiérarchique. Il débute par une commande volontaire émanant des centres supérieurs qui active le CPG locomoteur dans la moelle épinière qui induit à son tour un patron d'activité musculaire. Ces mouvements activent les propriocepteurs qui en retour modulent l'activité du CPG. Or il semble que ce système de contrôle ne coïncide pas exactement avec la réalité. D'abord il faut souligner que la contribution des centres supérieurs ne s'arrête pas

au déclenchement volontaire de la locomotion mais implique aussi une action continue pour le maintien de l'équilibre et l'anticipation des obstacles au cours de la locomotion (Armstrong 1986; Drew 1991). De plus, l'interaction entre les centres supérieurs et le CPG et entre le système sensoriel et le CPG ne semble pas être unidirectionnelle mais bien bidirectionnelle. Par exemple, le CPG envoie des signaux phasiques aux structures supraspinales (Orlovsky 1972; Arshavsky et al. 1984, 1988) et il serait à même de moduler la transmission dans les voies proprioceptives en agissant, par exemple, au niveau des afférences primaires elles-mêmes via les voies de l'inhibition présynaptique (voir section 4.5.1). Ainsi, selon Cohen (1992), le contrôle de la locomotion est plutôt distribué entre les différents contributeurs (centres supérieurs, CPG, et système sensoriel) qui ont des interactions mutuelles et c'est pourquoi on devrait plutôt le qualifier de hétérarchique.

L'interaction entre le CPG et le système sensoriel est d'autant plus cruciale qu'elle permet d'adapter le patron de marche aux altérations biomécaniques, tel que le changement de poids, de grandeur, de force etc, auxquelles est assujéti l'appareil musculo-squelettique au cours des différents stades de développement. En fait, par des mécanismes de plasticité encore inconnus, l'efficacité des voies sensorielles serait adaptée en fonction des propriétés biomécaniques du système locomoteur du moment. Par exemple, une donnée récente en ce sens est la compensation à une dénervation partielle des extenseurs de la cheville chez le chat où il effectue, au bout d'une semaine, une recalibration du gain dans les voies proprioceptives provenant des muscles épargnés (Pearson et al. 1998). Certains croient même que, du point de vue développement phylogénique, c'est cette flexibilité de l'interface entre le CPG et le système sensoriel qui

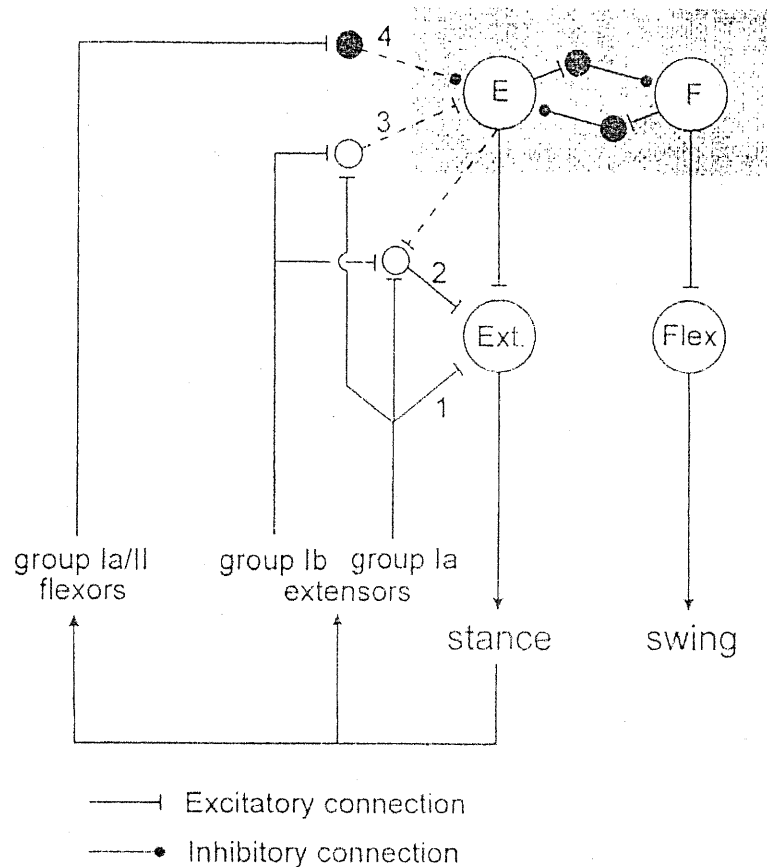
aurait permis l'accommodation du patron locomoteur aux demandes environnementales et aux pressions évolutives et non le CPG en tant que tel puisque son organisation neurale semble être assez bien conservée entre les espèces (Cohen 1992).

### **2.3 Composante sensorielle de la locomotion**

L'intégration des interneurons du réflexe de flexion, activés par des inputs musculaires de haut seuil, articulaires et cutanés, dans l'organisation neurale du CPG a permis la convergence des deux concepts longuement mis en opposition à savoir si le patron locomoteur était d'origine centrale ou périphérique. Depuis, plusieurs observations ont souligné à quel point le CPG et les circuits réflexes peuvent être vraiment entrelacés et que la rétroaction proprioceptive est un déterminant majeur de la rythmicité du CPG. D'autres ont démontré que les circuits réflexes activés par des inputs cutanés, articulaires ou musculaires, même sans être intégrés au CPG, pouvaient faire une action substantielle sur l'output locomoteur en plus de contrer certaines perturbations survenant lors de la locomotion. Dans la présente section, nous nous limiterons à décrire les voies réflexes activées par les afférences musculaires de groupe I qui affectent la rythmogénèse et/ou l'amplitude de l'activité musculaire lors de la locomotion.

### **2.3.1 Action réflexe affectant la rythmogénèse**

L'exemple le plus convaincant de l'action de la rétroaction sensorielle sur le rythme locomoteur est sûrement de voir un chat spinalisé adapter son rythme de marche à la vitesse du tapis roulant sur lequel il est placé. Dans ces conditions, la période du cycle locomoteur est régulée en réduisant la durée de la phase de support (quand l'animal supporte son poids grâce à l'activation de ses muscles extenseurs), tout en gardant plus ou moins constante la phase de balancement (quand l'animal fléchit et envoie sa patte vers l'avant). À partir de ces observations, on peut déduire que la rétroaction sensorielle régule la durée de la phase de support. Pour ce faire, elle doit produire son action sur les réseaux neuronaux responsables de l'activation des muscles extenseurs que l'on peut appeler "centre extensogène" du CPG. Un signal afférent sera considéré comme agissant au niveau du CPG quand il entraînera une altération persistante de la rythmicité normale du patron locomoteur. Cependant, c'est seulement dans les conditions expérimentales où toute rétroaction sensorielle est abolie, telle que lors de la locomotion fictive, où l'on peut démontrer l'action d'un input proprioceptif donné sur les réseaux qui sont responsables de la rythmogénèse tel le centre extensogène. Suivant ce principe, on a dénombré trois signaux proprioceptifs qui peuvent être considérés comme agissant directement sur la rythmicité du CPG locomoteur (voir Figure 1).



**Figure 1:** Schémas des circuits réflexes régulant la phase d'appui lors de la locomotion chez le chat. Les interneurons excitateurs sont en blanc et les inhibiteurs, en noir. 1) Voie monosynaptique des afférences IA des extenseurs aux motoneurons extenseurs. 2) Voie disynaptique excitatrice des afférences IA et IB des extenseurs aux motoneurons extenseurs. 3) Voie polysynaptique excitatrice des afférences IA et IB des extenseurs aux motoneurons extenseurs via le demi-centre extensogène. 4) Voie polysynaptique inhibitrice des afférences IA et II des fléchisseurs aux motoneurons extenseurs via le demi-centre extensogène. (Tiré de Pearson et al. 1998)

### 2.3.1.1. Inputs des extenseurs

Les voies réflexes les mieux étudiées pour leur action sur la locomotion sont certainement celles activées par les afférences de groupe I des muscles extenseurs. Le principal intérêt pour ces voies vient probablement du fait qu'elles sont réorganisées lors de la locomotion par rapport au repos. En effet, chez l'animal au repos, l'input des afférences de groupe IB des muscles extenseurs produit une inhibition qu'on qualifie de "inhibition IB autogénétique" puisqu'elle se fait, à la manière d'une boucle de rétroaction négative, au niveau des motoneurones des mêmes muscles. Or, lors de la locomotion, le même input des fibres IB des extenseurs produit plutôt une excitation de ces mêmes motoneurones i.e. qu'il y a formation de deux boucles de rétroaction positive; une voie disynaptique, qui est considérée comme étant en "dehors" du réseau formant le CPG, et une voie polysynaptique qui agirait au travers du CPG (revue par McCrea 1998; Pearson et al 1998).

Le premier indice de l'implication de cette dernière voie dans la régulation du rythme locomoteur fut procuré par les études entreprises chez la coquerelle aussitôt corroborées par les données chez le chat décérébré (Pearson et Duysens 1976; Duysens et Pearson 1980). Ces dernières démontrèrent qu'une augmentation de la tension exercée sur un muscle extenseur de la cheville pouvait interrompre la locomotion de cette patte sur tapis roulant en induisant une prolongation de l'activité des muscles extenseurs et une suppression de l'activité des muscles fléchisseurs. Par la suite, Conway et collaborateurs (1987) qui réétudièrent cette question lors de la locomotion fictive chez le chat spinal

injecté de L-Dopa, procurèrent deux preuves expérimentales qui permirent de croire que les volées d'afférences IB des extenseurs avaient accès au CPG. Premièrement, il démontrèrent que la stimulation des afférences de groupe I (IA-IB) des extenseurs induisait une interruption d'activité dans les nerfs fléchisseurs et une ré-initiation du rythme ou "resetting" (Conway et al 1987). À l'opposé, lorsque la stimulation était produite lors de la phase d'extension, il s'ensuivait une prolongation de cette phase, ce qui avait pour conséquence de retarder les cycles subséquents par rapport au moment où ils auraient dû advenir sans la stimulation. Deuxièmement, ils montrèrent que le rythme locomoteur pouvait être entraîné au gré du rythme de stimulation mécanique des afférences des extenseurs. La vibration répétitive des muscles extenseurs qui active spécifiquement les fuseaux et les fibres de groupe IA n'arrive pas à entraîner le rythme. Ces deux premières séries d'étude conclurent que les afférences de groupe IB étaient en majorité responsables de cette action. Subséquemment, Gossard et ses collègues démontrèrent de manière intracellulaire chez la même préparation le mécanisme responsable i.e. le renversement de l'action inhibitrice des fibres IB en une excitation polysynaptique (Gossard et al 1994). De plus, ces auteurs rapportent qu'il y a une facilitation spatiale entre l'input des afférences de groupe I des extenseurs et l'input des FRA contralatérales (coFRA) i.e. que ces deux inputs convergent sur des interneurones communs. Les interneurones activés par les co-FRA composent le demi-centre extenseur, tel que décrit plus haut. Cette convergence explique comment les inputs de fibres IB peuvent réinitier ou entraîner le rythme locomoteur.

Étant donné que parmi les afférences de groupe I on retrouve des afférences musculaires de groupe IA venant des fuseaux neuromusculaires, ainsi que des afférences

musculaires de groupe IB venant des organes tendineux de Golgi, d'autres auteurs ont voulu réévaluer la contribution relative de ces deux types d'afférences aux actions observées sur le centre extensogène. Des travaux chez le chat décérébré lors de la locomotion fictive évoquée par stimulation mésencéphalique, ont montré à l'aide de la vibration des muscles extenseurs, que les fibres de groupe IA de certains extenseurs pouvaient aussi réinitialiser le rythme en augmentant la phase d'extension mais non en interrompant la phase de flexion (Guertin et al 1995). Il fut donc suggéré que l'effet des afférences IA serait moins puissant que celui des afférences IB sur le centre extensogène du CPG mais qu'il contribuerait néanmoins à réguler la phase d'extension de la locomotion.

### **2.3.1.2. Inputs des fléchisseurs**

En plus des signaux convoyés dans les afférences de groupe IB et IA des muscles extenseurs, un troisième signal important pour initialiser la phase de balancement provient des propriocepteurs des muscles fléchisseurs. Sherrington, le premier, remarqua qu'une extension rapide de la hanche produisait la contraction des muscles fléchisseurs chez les chats spinaux chroniques et que leur locomotion était plus facilement induite en tenant l'animal de telle sorte que la force de gravité étire les membres inférieurs au maximum (Grillner 1981). Il en tira la conclusion que les propriocepteurs répondant à l'extension de la hanche devaient être les principaux responsables de la régulation du rythme locomoteur. Subséquemment, il fut démontré que les mouvements imposés du fémur d'un membre postérieur complètement dénervé, sauf pour ce qui est des afférences des



muscles de la hanche, peut réinitier et entraîner le rythme de locomotion chez le chat spinal (Andersson et Grillner 1983). De plus, tant que l'articulation de la hanche n'atteignait pas un certain angle d'extension, il ne se produisait pas de phase de balancement mais une prolongation de la phase de support chez le chat spinal chronique (Grillner et Rossignol 1978). Ce n'est que plus tard, avec les observations de Hierbert et al. (1996) montrant que l'étirement et la vibration du fléchisseur de la hanche, l'illiopsoas, pendant la phase d'extension amène l'initiation précoce de la phase de balancement de la locomotion sur tapis roulant du chat décérébré que l'on a pu déterminer que les afférences de groupe IA et de groupe II des fuseaux neuromusculaires de ce muscle signalaient l'extension de la hanche et facilitaient l'initiation de la phase de flexion. Ces travaux démontrèrent aussi que les afférences des fuseaux neuromusculaires de d'autres muscles fléchisseurs de la cheville pouvaient aussi produire le même effet. Cependant l'étude détaillée de ces voies lors de la locomotion fictive induite par la stimulation du MLR chez le chat décérébré indique plutôt des réponses qui sont essentiellement opposées i.e. que les fibres de groupe II des fléchisseurs réinitient le rythme en extension (Perreault et al. 1995). Ce paradoxe est probablement dû au fait qu'en temps normal les voies supraspinales sont importantes pour sélectionner les voies réflexes activant le centre de balancement (McCrea 2001). L'activation du réseau responsable des activités liées à la phase de balancement ou "centre flexogène" inhibe, en retour, l'activité du centre extensogène via leurs connexions d'inhibition réciproque. On peut donc supposer, pour fins de connectivité, que les afférences de groupe II ont un effet inhibiteur sur l'activité du centre extensogène.

### 2.3.1.3. Implications fonctionnelles

Ainsi, de façon simplifiée, on peut dire que les trois signaux proprioceptifs qui peuvent être responsables de la régulation du rythme locomoteur par une action sur le centre extensogène sont: un signal excitateur en provenance des organes tendineux de Golgi des muscles extenseurs, un signal excitateur en provenance des fuseaux neuromusculaires des muscles extenseurs et un dernier signal inhibiteur en provenance des fuseaux neuromusculaires des muscles fléchisseurs (voir Figure 1). Ces observations impliquent sur le plan fonctionnel que l'activation du centre extensogène par les afférences de groupe IB et IA assure que la phase de support soit maintenue lorsqu'il y a mise en charge (forte tension) sur les muscles extenseurs et prévient l'initiation de la phase de balancement alors que l'input des afférences de groupe IA des muscles fléchisseurs de la hanche initie cette phase de balancement. Donc, à la fin de la phase de support, la mise en charge sur les muscles extenseurs décline progressivement, il y a donc moins d'inputs IB et IA des extenseurs activant le centre extensogène, et puisqu'au même moment il y a extension de la hanche, il y a plus d'inputs IA des fléchisseurs qui inhibent le centre extensogène. Ainsi, à la fin de la phase de support, le centre extensogène est de moins en moins activé par ces deux groupes d'afférences, jusqu'à un point où l'inhibition du centre flexogène est soulevée et l'initiation de la phase de balancement s'ensuit (Pearson et al. 1998).

### **2.3.2 Action réflexe affectant l'amplitude de l'activité musculaire**

Lorsqu'il marche, un animal supporte son poids de façon à maintenir son corps à une distance constante du sol. Chez le quadrupède, la hauteur de son arrière-train est régulée principalement par l'activité des muscles extenseurs de la cheville et du genou des membres postérieurs. Or, une importante contribution à l'activité de ces muscles proviendrait de la rétroaction sensorielle produite via les voies réflexes en provenance des afférences IA et IB (Pearson et al. 1998). En fait, il a été démontré qu'une réduction de la rétroaction sensorielle en provenance des fuseaux neuromusculaires des muscles extenseurs, produite par blocage de conduction dans les motoneurones gamma, est responsable d'une diminution de moitié du niveau d'activité dans ces muscles (Severin 1970). Un effet tout à fait semblable est observé lorsqu'en utilisant un système de trappe sur un tapis roulant on prévient le contact du pied au sol (et donc la mise en charge sur les muscles extenseurs du membre inférieur) ou si on soulève l'arrière train de l'animal (Hierbert et Pearson 1999). De ces voies qui modulent l'amplitude de l'activité musculaire des extenseurs dans la phase de support lors de la locomotion, on compte celles qui agissent directement sur le centre extensogène du CPG dont nous avons précédemment parlé et celles qui n'ont pas d'accès à la rythmogénèse mais qui agissent au niveau des motoneurones i.e les voies excitatrices monosynaptiques et disynaptiques et la voie disynaptique de l'inhibition réciproque.

La voie excitatrice monosynaptique qui est la plus rapide est composée des afférences de groupe IA faisant un contact direct avec presque tous les motoneurones du

même muscle (connexions homonymes) ainsi qu'avec les motoneurones des muscles synergistes (connexions hétéronymes). Cette voie est celle du réflexe d'étirement qui fut décrite par Sherrington comme la contraction d'un muscle en réponse à son étirement. L'hypothèse la plus ratifiée quant à ce réflexe fut qu'il constitue un mécanisme compensatoire aux altérations imprévues de la longueur du muscle car il tendrait à contrecarrer les déviations par rapport à une valeur de référence de la variable qu'est l'étirement du muscle. En fait, il peut être considéré comme une boucle de rétroaction négative tendant à maintenir la longueur musculaire stable (Baldissera 1981). Ce réflexe est particulièrement important au repos pour le maintien de la posture et on sait qu'il est diminué d'amplitude lors de la locomotion (Brooke et al 1997).

Parallèlement, cette même information sensorielle en provenance des IA est relayée dans la voie de l'inhibition réciproque. Cette voie disynaptique comprend un seul relais qu'on nomma "interneurone inhibiteur IA" et qui inhibe le muscle antagoniste à celui d'où origine l'input IA. Cette inhibition est particulièrement pertinente pour induire la relâche du muscle antagoniste par diminution de son tonus afin que la contraction du muscle agoniste produise un mouvement. Dans d'autres tâches motrices, il faut rigidifier l'articulation pour la stabiliser et une co-contraction des muscles agonistes et antagonistes peut être produite en diminuant l'inhibition réciproque (Kandel et al. 2000). Lors de la locomotion, l'activité des interneurones inhibiteurs IA suit le rythme de locomotion (Cabelguen 1988) et l'inhibition réciproque est en effet modulée selon les phases (Degtyarenko et al. 1998).

Enfin, comme mentionné plus haut, lors de la locomotion, il y a réorganisation des voies activées par les afférences de groupe I des extenseurs de telle sorte que deux nouvelles voies sont utilisées, soit une polysynaptique précédemment décrite et une disynaptique. Toutes deux peuvent activer les muscles extenseurs mais se distinguent en plusieurs points. D'abord, contrairement à la voie polysynaptique, les interneurons de voie disynaptique sont recrutés par les afférences de groupe IA et IB dont la contribution relative n'est pas encore élucidée. De plus, ces interneurons ne feraient pas partie du centre extensogène. En effet, dans certaines préparations (e.g. spinal injecté de L-Dopa), la locomotion peut être présente sans que l'excitation disynaptique le soit. De plus, son effet maximal est toujours induit lors de la phase d'extension alors que le LDP (et donc le centre extensogène) est à son maximum d'activité dans les motoneurons extenseurs (McCrea et al. 1995). Lors de cette phase, l'excitation polysynaptique est minimale et cette diminution a été attribuée à l'occlusion dans ces voies (Gossard et al. 1994). La contribution de cette action sur l'amplitude de l'activité musculaire des extenseurs est particulièrement intéressante car elle constitue une boucle de rétroaction positive (Prochazka et al. 1997).

### **3. MODULATION DE LA TRANSMISSION SENSORIELLE**

Afin d'optimiser l'effet des inputs sensoriels sur le patron locomoteur, les réflexes se doivent d'être intégrés de façon harmonieuse parmi les commandes motrices générées centralement. Pour ce faire, la transmission dans ces voies réflexes est modulée par des mécanismes d'action motoneuronal, interneuronal ou présynaptique dont fait partie l'inhibition présynaptique qui est au coeur de la présente étude.

#### **3.1 Exemple de modulation d'une voie réflexe**

Lorsque la locomotion débute, les réflexes qui étaient en charge de contrôler la posture à l'état de repos se trouvent réorganisés afin de contribuer à la régulation du patron locomoteur (Büschges et El Manira 1998; McCrea 2001). Une telle réorganisation implique des mécanismes permettant la suppression ou l'émergence de certaines voies réflexes et la modulation du gain de certaines autres (Pearson 1995). L'exemple du réflexe d'étirement illustre bien ces deux types de modulation réflexe. En effet, il fut décrit chez le chat et l'humain que l'amplitude moyennée du réflexe d'étirement tout au long du cycle locomoteur était plus faible qu'à l'état de repos, ce qui reflète une modulation tonique du gain du réflexe (Akazawa et al. 1982; Yang et Whelan 1993). De plus, on mesura des variations de l'amplitude du réflexe entre les différentes phases du cycle locomoteur, l'amplitude maximale se trouvant pendant la phase d'activation du muscle, ce qui reflète

une modulation phasique dans la transmission du réflexe (Stein et Capaday 1988; Faist et al. 1996; Simonsen et Dyhre-Poulsen 1999). Il est à noter que la modulation du réflexe d'étirement ne peut s'effectuer qu'à deux niveaux, soit au niveau des afférences musculaires de groupe IA ou au niveau des motoneurones alors que dans les autres voies réflexes la modulation peut aussi s'effectuer au niveau des interneurones. De plus, puisque les modifications phasiques du réflexe d'étirement ne suivaient pas exactement le niveau d'activité dans l'électromyogramme (EMG), et donc l'excitabilité des motoneurones, on attribua une partie de ces modulations à une variation d'inhibition présynaptique.

### **3.2 Niveau motoneuronal**

Les motoneurones ont été considérés depuis Sherrington comme la voie finale commune où aboutissent les commandes motrices (Jeannerod 1983). Ils sont aussi la dernière composante de toutes les voies réflexes ce qui fait en sorte que l'output de ces voies est fonction de leur niveau d'excitabilité. Or, l'excitabilité des motoneurones dépend de leur conductance membranaire et par conséquent, on ne peut les considérer comme une mécanique passive qui additionne les inputs synaptiques excitateurs et inhibiteurs jusqu'au seuil des potentiels d'action. Lors de la locomotion, il y aurait dans les motoneurones, la mise en jeu de potentiels de plateau qui mettent à contribution certains courants ioniques dépendant du voltage leur conférant une relation input-output non-linéaire (Hounsgaard et al. 1988; Brownstone et al. 1994). Ainsi, ces potentiels de plateau produiraient une amplification des inputs synaptiques en provenance des voies réflexes

proprioceptives ou autres ce qui influencerait la fréquence de décharge et la force générée par les motoneurones (cf. Kiehn 1991). En plus, l'état locomoteur augmenterait la capacité des motoneurones à décharger. En effet, il fut observé qu'en locomotion comparativement au repos, le courant nécessaire à la production d'un potentiel d'action est plus petit (Kravitz et al. 2001) et que la fréquence de décharge est plus élevée (Brownstone et al. 1992). Ce phénomène serait la conséquence de deux mécanismes. D'abord on démontra une diminution des hyperpolarisations suivant chaque potentiel d'action (afterhyperpolarization potentiel: AHP) (Brownstone et al. 1992). Étant donné que ces hyperpolarisations sont responsables de la période réfractaire à la production d'un nouveau potentiel d'action, leur diminution augmente la fréquence de décharge. Plus récemment, on démontra aussi une hyperpolarisation du seuil de l'initiation du potentiel d'action attribuable à un processus neuromodulateur indéterminé (Kravitz et al., 2001).

### **3.3 Niveau interneuronal**

Les interneurones sont le passage obligé de toutes les voies réflexes autres que celle du réflexe d'étirement avant d'atteindre les motoneurones et sont une composante-clé dans la flexibilité des réflexes. Pourtant, ils ont longtemps été considérés comme un simple relais dans la transmission sensorielle. Plus encore, on présumait traditionnellement que chacune des voies réflexes était spécialisée dans la transmission de l'information en provenance d'un seul type d'afférences sensorielles attribuant ainsi à la population d'interneurones intercalée dans chacune des voies une fonction unique. Or il s'avéra que les interneurones de pratiquement toute les voies réflexes reçoivent des



afférences de différents types de récepteurs sensoriels (Baldissera et al. 1981; McCrea 1992; Hultborn 2001; Jankowska 2001). A prime abord, il paraît étonnant que des informations précises si soigneusement décodées par les récepteurs sensoriels se mélangent au niveau interneuronal. Cependant, cette convergence ne doit pas être associée à une perte d'information sensorielle mais comme une possibilité de faire l'intégration de ces informations à un niveau pré-motoneuronale. En fait, la sommation spatiale de l'activité produite par les sources multimodales au niveau des interneurones pourrait augmenter leur niveau d'excitabilité au point de les recruter même si, de façon individuelle, cette activité serait plutôt modérée (Lundberg 1979). En plus de ces sources d'activation périphérique, il fut démontré que les circuits interneuronaux des voies réflexes recevaient de plus les inputs de voies descendantes qui pourraient, eux aussi, modifier leur excitabilité (Baldissera et al. 1981). La démonstration d'une telle interaction a poussé à revisiter les concepts alors en vigueur à savoir que les réflexes spinaux et l'activité déclenchée par les commandes motrices seraient des entités séparées, indépendantes dans leur organisation, ne partageant que les motoneurones (Hultborn 2001). Ainsi, les mêmes interneurones pourraient, suivant l'intégration d'une combinaison appropriée d'une multitude de sources excitatrices et inhibitrices de provenance centrales (spinal ou supraspinal) ou périphériques (multimodale), être mis à contribution dans une vaste variété de comportements moteurs.

Certaines observations démontrent qu'une population d'interneurones initialement assignée à une voie réflexe bien définie, pourrait de plus être fractionnée en sous-populations possédant chacune ses caractéristiques propres quand à leurs inputs et outputs. Plus spécifiquement, ces sous-populations d'interneurones ne recevraient pas la

même proportion d'inputs synaptiques des sources périphériques, supraspinales ou segmentaires. De plus, elles ne projettent pas toujours aux mêmes cellules-cibles ni ne produiraient chez ces dernières la même action. La première démonstration de telles voies réflexes parallèles provient des travaux de Lundberg sur les voies des FRA. Selon lui, l'exemple le plus dramatique d'une voie alternative est le remplacement de la voie de courte latence du réflexe de flexion observée en temps normal par une voie de longue latence du réflexe de flexion induite par l'administration de L-Dopa chez l'animal spinalisé (Lundberg 1979). Un autre exemple spectaculaire d'une voie alternative est celui des inputs de groupe IB des extenseurs qui, en temps normal, produisent une inhibition autogénétique et qui lors de la locomotion produisent plutôt une excitation des mêmes motoneurones (voir section 3.3.3). Ces deux exemples démontrent bien qu'un même input peut être aiguillé dans des voies interneuronales parallèles mais qu'il est préférentiellement transmis dans l'une de celles-là selon la tâche motrice à effectuer. En fait, comme le résume si bien McCrea: "...during behaviour several neural mechanisms reduce the operational complexity of these systems so that a particular interneuron pathways are selected over others." (McCrea 1992). Le mécanisme qui permettrait cette sélection est la limitation ou l'accroissement de la transmission d'inputs aux interneurones qui ferait en sorte qu'une seule des voies interneuronales pourrait être recrutée.

Un des moyens par lequel s'effectue cette modulation de la transmission sensorielle dans les voies alternatives est l'interaction entre les différentes voies réflexes (McCrea 1992; Jankowska 2001). La voie des FRA dont nous parlions ci-haut en est un bon exemple. En effet, dans ce cas, il y aurait une inhibition faite par la voie de courte latence au niveau de la voie de longue latence qui serait levée suite à l'injection

pharmacologique (Jankowska et al. 1967a,b). Un deuxième moyen illustré par l'exemple des afférences de groupe IB des extenseurs est un déséquilibre entre les inputs de provenance centrale (spinal ou supraspinal) sur chacune des voies parallèles (Jankowska 2001). En effet, lors de la locomotion, la voie de l'inhibition autogénétique IB est inhibée par le CPG locomoteur alors que la voie excitatrice est excitée par ce même CPG (voir section 2.2.1.1). Dans les deux exemples choisis, l'input et la cible de l'output est la même pour les deux voies parallèles mais la réponse évoquée est différente à cause des propriétés des interneurones sélectionnés. Il est à noter que certaines voies alternatives ne sont pas activées par les mêmes inputs périphériques et ne distribuent pas leur action aux mêmes cibles. En effet, il existe en plus des voies de courte et de longue latence des FRA décrites précédemment, des voies des FRA dites "spécialisées", caractérisées par une convergence des afférences et une divergence aux motoneurones plus limitées. Par exemple, les inputs presque exclusivement en provenance des afférences cutanés du nerf sural ne produisent qu'une excitation des motoneurones du gastrocnémien médian et une inhibition des motoneurones du gastrocnémien latéral (Labella et al. 1990).

### **3.4 Niveau des afférences primaires**

Finalement, l'input sensoriel peut être modulé avant même la première synapse dans la moelle épinière, soit au niveau de l'afférence primaire elle-même. Cette modulation implique la participation de mécanismes périphériques, centraux de type intrinsèque et centraux de type extrinsèque.

Un premier moyen de moduler l'input sensoriel est d'agir au niveau même du récepteur sensoriel périphérique d'où il est généré. Un tel système est en place pour modifier la sensibilité des fuseaux neuromusculaires. En effet, des motoneurones de type gamma, qui peuvent être activés par les voies descendantes, innervent les trois types de fibres comprises dans ces fuseaux. Ces motoneurones contactent les extrémités polaires de ces fibres et induisent leur contraction ce qui permet de garder la portion centrale de ces fibres sous tension. Or, c'est l'étirement de cette portion centrale qui évoque la décharge des afférences sensorielle de groupe IA et II et signale les changements de longueur et l'état d'étirement du muscle. Ainsi, l'action des motoneurones gamma augmenterait la sensibilité de ces fibres intrafusales à un éventuel étirement et permettrait la genèse des inputs IA et II dans un plus grand éventail de conditions de longueur du muscle (Kandel et al. 2000).

Un deuxième moyen de moduler l'input sensoriel dans les afférences sensorielles est de réguler la quantité de neurotransmetteurs relâchée à leurs terminaisons. Un des mécanismes impliqué dans cette régulation est la dépression post-tétanique (postactivation depression). Ce phénomène est caractérisé par une diminution de la transmission synaptique entre une afférence primaire et sa cible due à la précédente activité de cette afférence. En étudiant le réflexe d'étirement, on démontra que le mécanisme d'action était bien présynaptique car l'activation des autres sources que celle précédemment activée ne produisaient pas de dépression (Hultborn et al. 1996). De plus, étant donné que l'effet était confiné aux seules afférences stimulées par le train conditionnant, on ne pouvait l'attribuer aux mécanismes de l'inhibition présynaptique classique dont l'effet est largement distribué au niveaux de plusieurs types d'afférences

(Hultborn et Nielsen 1998). On vint donc à la conclusion que la dépression post-tétanique serait causée par un processus intrinsèque à la terminaison synaptique de l'afférence primaire.

Le deuxième mécanisme qui peut réguler l'input sensoriel est l'inhibition présynaptique de type classique. Ce mécanisme extrinsèque à la synapse implique l'activation d'interneurones spinaux dont l'action au niveau des terminaisons des afférences primaires diminuerait leur relâche de neurotransmetteurs. L'inhibition présynaptique peut être très distribuée en ce sens qu'elle peut être produite dans les afférences de toutes origines, impliquées dans les diverses voies réflexes. Elle peut cependant être confinée à une seule portion des afférences et devient alors très sélective (Schmidt 1971; Nicoll et Alger 1979; Rudomin et Schmidt 1999). C'est cette caractéristique qui avantage ce moyen présynaptique de modulation de la transmission sensorielle vis-à-vis des autres mécanismes (voir section 4.1). Il est à noter que, tout comme les interneurones des voies réflexes, les interneurones responsables de l'inhibition présynaptique reçoivent une multitude de sources supraspinales et segmentaires. Leur activation et donc leur capacité à moduler la transmission sensorielle, sera donc elle-même régulée par les mêmes moyens ci-haut mentionnés.

## **4. L'INHIBITION PRÉSYPNAPTIQUE**

---

Mon thème de recherche porte sur l'inhibition présynaptique comme moyen de contrôle de la transmission sensorielle des afférences musculaires de groupe I lors de la locomotion. Dans ce chapitre nous allons donc d'abord réviser comment se produit l'inhibition présynaptique. Nous verrons ensuite à quel point ce mécanisme de contrôle peut être lui-même assujéti à une régulation de diverses origines et spécifiquement d'origine sensorielle. Finalement, nous nous questionnerons sur ce qu'il advient de ce contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique lors de la locomotion.

### **4.1 Rôles**

Comme en fait foi sa présence répandue dans le règne animal et lors de la genèse de différents comportements moteurs, l'inhibition présynaptique semble jouer un rôle majeur dans la régulation de la transmission sensorielle pour l'optimisation du comportement moteur (Nusbaum et al. 1997; Rudomin and Schmidt 1999). En fait, on peut lui attribuer plusieurs fonctions. D'abord elle peut adapter l'intensité de l'input afférent, ce qui peut modifier l'efficacité des voies réflexes. Par le fait même, elle pourrait prévenir l'habituation des synapses sensorielles à un input répétitif. Aussi, elle pourrait empêcher qu'une trop grande quantité d'input sature ou désensibilise le neurone postsynaptique (Wolf and Burrows 1995). Ainsi, elle pourrait épargner l'effet des inputs sensoriels

routiniers ce qui accentuerait ceux qui surviennent hors normes (Schmidt 1971). De plus, l'inhibition présynaptique pourrait non seulement changer le gain des voies réflexes, mais pourrait jusqu'à faire en sorte que ces voies soit recrutées ou non lors d'un comportement moteur. Parce que l'inhibition présynaptique possède en plus la caractéristique de pouvoir produire une action sélective sur certaines afférences sensorielles elle pourrait déterminer par quel type d'input les interneurons de ces réflexes seront activés. Finalement, il a été suggéré que les décharges antidromiques produites lorsque la dépolarisation de l'afférence primaire (PAD) atteint le seuil de décharge pourraient interférer avec la transduction sensorielle en changeant l'excitabilité des récepteurs (Lin et Fu 1998; Gossard et al. 1999). Ainsi, lors de la locomotion, l'inhibition présynaptique de la transmission sensorielle pourrait être un des mécanismes responsables de la modulation des réflexes nécessaires à leur incorporation adéquate dans le cycle locomoteur (Rossignol 1996; Nusbaum et al 1997).

#### **4.2 Données précédentes**

Notre présente compréhension de l'inhibition présynaptique chez les vertébrés vient de la synthèse de données collectées sur une période de presque trois quart de siècle. Avant même que les données démontrant l'existence d'une telle inhibition nous soit procurées et qu'on cherche à lui attribuer un mécanisme responsable, on répertoriait les manifestations électrophysiologiques de ce processus. Voici donc en ordre chronologique les indices qui nous conduisirent à la compréhension de l'inhibition présynaptique.

#### ***4.2.1 Manifestations électrophysiologiques associées à l'inhibition présynaptique***

Aussi tôt que 1891, Gotch et Horsley décrivent que certains potentiels d'action se propageaient de façon centrifuge dans les racines dorsales. Ainsi, sans le savoir, ils venaient de faire la toute première observation d'une manifestation du phénomène de l'inhibition présynaptique que sont les décharges antidromiques. La description d'une autre manifestation du genre ne survint que plusieurs années plus tard, avec Gasser et Graham (1933) qui enregistrèrent à la surface de la moelle épinière, en réponse à une volée afférente, des potentiels positifs (P wave) au décours prolongé (200ms). Au même moment, Barron et Matthews (1938) décrivaient de lents potentiels négatifs enregistrés dans des filaments de racines dorsales coupées en réponse à une volée afférente. Ils argumentèrent que ces potentiels de racine dorsale (DRP) et les P waves étaient produites par une même source qui produisait une dépolarisation des terminaisons des afférences primaires (PAD) se propageant de façon électrotonique vers la périphérie. Aussi, pour la première fois, on associa cette dépolarisation à un processus d'inhibition centrale à cause de la correspondance entre le décours temporel de celle-ci et le décours de l'inhibition du réflexe de flexion. À cette même époque, l'étude des décharges antidromiques dans ces racines dorsales se poursuit et furent dénommées "réflexes de racine dorsale" (dorsal root reflex ou DRR). Toennies démontra que celles-ci pouvaient être évoquées, même chez l'animal spinalisé, par la stimulation de nerfs sensoriels et qu'elles possédaient des propriétés semblables à celles des réflexes spinaux et du DRP, telles que la sommation, la facilitation et l'inhibition. Il fut suggéré que ces décharges seraient initiées par la



dépolarisation des afférences primaires atteignant le seuil des potentiels d'action et qu'elle n'étaient pas un simple artéfact du à une température de la moelle épinière sous les normales (révisé dans Schmidt 1971; Nicoll et Alger 1979; Rudomin et Schmidt 1999; Willis 1999).

Le test de l'excitabilité intraspinale développée par Wall en 1958 fut subséquemment utilisé pour faire la démonstration de la présence de ces dépolarisations au niveau des terminaisons des afférences primaires. Cette technique consiste à stimuler à l'aide d'une microélectrode la terminaison axonale pour produire des décharges antidromiques dans les afférences qui sont enregistrées au niveau d'un nerf coupé. Ainsi, une plus grande taille de la somme des décharges antidromiques pour une même stimulation intraspinale est synonyme d'une plus grande excitabilité de la terminaison et donc d'une dépolarisation de l'afférence primaire. Aussi, en injectant un courant propre à produire des décharges antidromiques dans une fibre unique avec une probabilité de 0.5 en tout temps, la modulation du courant mesuré nous indique la modulation de l'excitabilité et donc de l'amplitude de la dépolarisation (Madrid et al. 1979). Dans ces mêmes années, on commença à utiliser une autre méthode pour mesurer les dépolarisations des afférences primaires soit l'enregistrement intra-axonal de ces afférences au niveau de la colonne dorsale où elles atteignent leur diamètre le plus large (Koketsu 1956; Eccles et Krnjevic 1959). Bien que l'enregistrement se fasse à quelque distance du site où la dépolarisation est générée, cette méthode est plus directe et donne en plus la possibilité d'identifier le type d'afférence qui est dépolarisée.

#### **4.2.2 Preuve de l'existence d'une inhibition présynaptique**

La nature de l'inhibition centrale associée à la dépolarisation d'afférences primaires resta obscure jusqu'aux investigations de Frank et Fuortes de 1957. En fait, ils démontrèrent que les EPSPs monosynaptiques enregistrés intracellulairement dans les motoneurones étaient réduits par une volée dans les afférences primaires sans changement de conductance membranaire. Or, puisque les potentiels post-synaptiques inhibiteurs (IPSPs) impliquent l'activation de canaux ioniques et donc s'accompagnent d'un changement de conductance, ils attribuèrent la réduction des EPSPs monosynaptiques à une action pré-motoneuronale telle que le blocage de la transmission au niveau de la terminaison de l'afférence. Néanmoins, ils préférèrent nommer cette inhibition "remote inhibition" pour inclure une explication alternative qui est une inhibition post-synaptique produite dans les dendrites trop éloignés pour qu'elle soit détectable par une électrode localisée dans le soma d'un motoneurone (Schmidt 1971; Nicoll et alger 1979; Rudomin et Schmidt 1999; Willis 1999). Quelques années plus tard en 1961, Eccles et ses collaborateurs ajoutèrent à ces observations que le déroulement temporel des EPSPs n'était pas modifié dans ces conditions inhibitrices, excluant ainsi la possibilité d'un site d'action dendritique. D'autres études confirmèrent cette observation en portant une attention toute particulière à la phase de déclin particulièrement sensible aux changements de conductance dendritique. Ils démontrèrent aussi que les EPSPs monosynaptiques produits par des volées descendantes n'étaient en rien altérés par cette inhibition, ni même en amplitude contrairement aux EPSPs produits par les afférences primaires de groupe IA (Schmidt 1971; Nicoll et alger 1979; Rudomin et Schmidt 1999; Willis 1999).

### **4.2.3 PAD et inhibition présynaptique**

Finalement, les travaux d'Eccles et collaborateurs rétablirent l'association de la dépolarisation des afférences primaires (qu'ils nommèrent "PAD") avec l'inhibition du réflexe monosynaptique en soulignant que les deux processus avaient le même déroulement temporel. Ces auteurs étaient aussi d'avis qu'une activité interneuronale était à la source des PADs et postulèrent que l'activation de synapses axo-axoniques produisait la dépolarisation. Or, à l'époque on examinait aussi l'hypothèse suggérant que les terminaisons des afférences pourraient être dépolarisées par l'accumulation d'ions potassiques extracellulaires causée par une augmentation de l'activité interneuronale. Plusieurs observations vinrent infirmer cette hypothèse. D'abord, le déroulement temporel des changements potassiques ne correspondait pas à celui des PADs et de l'inhibition présynaptique, il n'expliquait pas non plus les sommations spatiales et temporelles, ni le blocage des PADs par le magnésium (Schmidt 1971; Nicoll et alger 1979; Vyklicky et Knotkova-Urbancova 1998; Willis 1999; Rudomin et Schmidt 1999). Cependant, il fallut attendre la disponibilité de micro-électrodes sensibles au potassium pour investir de façon irrévocable cette possibilité. Ainsi Jimenez et collaborateurs (1984) démontrèrent une absence de corrélation entre la magnitude de la PAD, telle que mesurée par le test d'excitabilité intraspinale, et la concentration d'ions potassiques enregistrée au pourtour de l'électrode. De façon générale, ces données favorisèrent l'hypothèse que les PADs soient produites par des synapses chimiques faites par des interneurones au niveau des terminaisons axonales.

#### **4.2.4 Données histologiques et pharmacologiques des contacts axo-axoniques**

Ce n'est qu'après que l'hypothèse voulant que des interneurons soient à la source des PADs qu'il y eut une description histologique de tels contacts axo-axoniques validant ainsi l'hypothèse avancée par Eccles. Il fallut attendre quelques années supplémentaires pour avoir la preuve que l'élément postsynaptique de ces synapses était bel et bien des afférences primaires (Alvarez 1998). Depuis les observations se sont multipliées et, pour ce qui est des afférences musculaires de groupe I concernées par la présente étude, elles comptent bon nombre de ces contacts, autant chez les afférences de groupe IA que IB (Rudomin et Schmidt 1999). Ces synapses ont pu être identifiées comme étant inhibitrices grâce à leur caractères morphologiques (i.e. contenant des vésicules aplaties ou de forme irrégulière) et on confirma qu'il s'agissait de contacts GABAergiques par immunohistochimie (Lamotte d'Incamps et al., 1998). Il est à noter que des études électrophysiologiques entreprises par Rudomin (Rudomin et al., 1987) ont aussi montré que les interneurons GABAergiques contactant les afférences peuvent aussi contacter les motoneurons, ce qui laisse la possibilité que, dans certaines conditions, il s'effectue en plus de l'inhibition présynaptique une inhibition postsynaptique.

Après les données morphologiques de l'existence de synapses GABAergiques de type axo-axonique, il y eut d'autres données cette fois pharmacologiques pour appuyer l'hypothèse que ce type de synapses seraient bel et bien les précurseurs des PADs. Étant

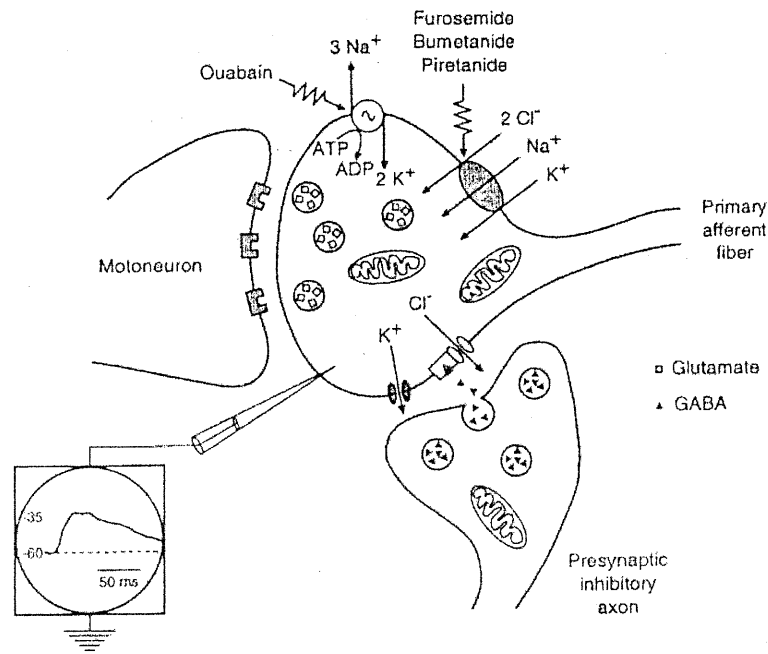
donné qu'il existe plusieurs types de récepteurs GABAergiques, ces expériences pharmacologiques permirent aussi de préciser quel type de récepteurs pouvaient être impliqués dans la production des PADs. Aussi, puisque ces différents récepteurs produisent une action différente au niveau de la cellule postsynaptique, connaître ces récepteurs donnèrent les premiers indices sur le mécanisme responsable des PADs et de l'inhibition présynaptique. Ainsi, dès 1963, Eccles démontra que les PADs étaient réduites suivant l'injection systémique ou topique sur la moelle épinière lombaire d'un antagoniste du récepteur de type GABA<sub>A</sub>, soit la picrotoxine. Cependant, l'observation la plus directe que le GABA dépolarise les terminaisons intraspinales ne fut obtenue qu'en 1977 par les expériences de Curtis et collaborateurs qui montrèrent que, suivant l'injection iontophorétique de GABA à proximité des terminaisons, il se produisait une dépolarisation (comme un PAD produite par une volée afférente) qui pouvait être réduite par la bicuculine, un autre antagoniste des récepteur GABA<sub>A</sub> (Curtis 1998). De plus, on observa que le Baclofen réduisait les EPSPs monosynaptiques dans les motoneurones sans toutefois produire de PAD. Cet effet, qui n'est pas bloqué par la bicuculine, fut attribué aux récepteurs GABA<sub>B</sub>, ce qui laisse croire que ceux-ci seraient en partie responsables de l'inhibition présynaptique (Curtis 1998, Redman 1998).

Il est à noter qu'on connaît maintenant d'autres neurotransmetteurs ou neuromodulateurs pouvant produire une action présynaptique au niveau des afférences sensorielles (Rudomin et Schmidt 1999; Willis 1999). Par exemple, chez la lamproie, à l'aide de diverses techniques de marquage, on observa des terminaisons contenant du GABA et le neuropeptide Y, de la sérotonine et de la tachykinine (Substance P) faisant des contacts sur les axones sensorielles des cellules dorsales à proximité de leurs synapses

terminales. De plus, suivant l'application de ces substances sur la préparation in vitro, les EPSPs monosynaptiques enregistrés dans les interneurons géants se trouvent réduits ou facilités sans changement de conductance notable ce qui démontre leur action présynaptique (El Manira et al. 1998).

#### **4.3 Mécanisme d'action de la synapse GABAergique**

Les récepteurs principalement impliqués dans la production des PADs sont les récepteurs de type GABA<sub>A</sub> dont l'activation ouvre un canal chlorique. Au niveau du motoneurone, le potentiel d'équilibre du chlore est à un niveau plus hyperpolarisé que le potentiel de repos ce qui amène l'entrée des ions chloriques produisant ainsi un IPSP, alors qu'au niveau de la terminaison des afférences primaires, le potentiel d'équilibre est environ 35mV plus dépolarisé que le potentiel de repos, ce qui amène les ions chloriques à quitter la terminaison ce qui la dépolarise (Willis 1999). La raison pour laquelle le potentiel d'équilibre du chlore n'est pas le même dans ces deux neurones vient du fait qu'au niveau des terminaisons d'afférences, les ions chloriques sont co-transportés avec des ions sodiques et potassiques du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire par un transporteur de type secondaire. Ces mouvements ioniques sont promus par l'énergie emmagasinée dans le gradient sodique qui lui-même est maintenu par la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> utilisant l'ATP (Alvarez-Leefmans et al. 1998 voir Figure 2).



**Figure 2:** Représentation schématique d'un axone présynaptique inhibiteur établissant un contact axo-axonique avec la terminaison d'une afférence primaire faisant synapse avec un motoneuron. Une microélectrode implantée dans la terminaison de l'afférence primaire enregistre la dépolarisation produite par le GABA. Le flot d'ions chloriques est responsable de la dépolarisation qui à son tour produit l'ouverture des canaux potassiques. La pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  activée par l'ATP induit un gradient sodique qui est rétabli par le cotransporteur  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  qui rétablit du même coup le gradient des d'ions chloriques. (Tiré de Alvarez-Leefmans et al. 1998)

L'inhibition présynaptique diminue la relâche de neurotransmetteurs soit en bloquant l'invasion des potentiels d'action dans les terminaisons axonales (shunt du chlore) soit en réduisant l'amplitude des potentiels d'action présynaptique et par conséquent le courant calcique responsable de l'exocytose. Ces deux mécanismes semblent résulter de la dépolarisation des terminaisons et du changement de conductance membranaire (Rudomin et Schmidt 1999). D'une part, des études de patch-clamp entreprises dans les terminaisons pituitaires postérieures chez le rat démontrèrent que le potentiel d'action n'était pas altéré lorsque l'activation des récepteurs GABA<sub>A</sub> ne produisait qu'un changement de conductance sans dépolarisation. Il fut de plus suggéré que la dépolarisation produisait son action en inactivant des canaux sodiques (Alvarez-Leefmans et al., 1998). D'autre part, certains modélistes ont suggéré que changement de conductance produirait un court-circuit des courants ioniques responsable du potentiel d'action et que le PAD augmenterait cet effet (Lüscher 1998). Cette question a pu être examinée chez l'écrevisse, un modèle de choix permettant l'enregistrement intracellulaire des régions axonales où sont situées les synapses GABAergiques soit autour du premier embranchement des afférences sensorielles. Ces études ont montrées que des petites PADs (3-15mV) arrivaient à réduire l'amplitude du potentiel d'action alors qu'une dépolarisation du potentiel de membrane par injection de courant (jusqu'à 15mV) n'y arrivait pas. Ces données suggèrent que le principale moyen par lequel les petites PADs agissent sur le potentiel d'action serait le changement de conductance et non l'inactivation des canaux sodiques (Cattaert et El Manira 1999, Cattaert et al. 2001). Quand à l'effet des récepteurs GABA<sub>B</sub> qui se produit sans dépolarisation des terminaisons axonales, il réduirait l'activation des canaux calciques dépendant du voltage activés lors du potentiel d'action ou activerait des courants potassiques par l'intermédiaire d'un second messenger (Curtis 1998).



#### **4.4 Interneurones de la voie des PADs**

La détermination de la plus courte latence des PADs produites par la stimulation des afférences sensorielles a permis d'estimer le nombre minimal d'interneurones intercalés dans la voie des PADs à deux (Jankowska et al. 1981). On tenta par la suite d'identifier ces interneurones par leur connexions avec les afférences primaires. Ainsi, par la microstimulation intraspinale, on localisa les interneurones de dernier-ordre de la voie des PADs qui produisaient leur action sur les afférences musculaires de groupe I au niveau des lames V et VI de la moelle épinière (Jankowska et al. 1981). Subséquemment, Rudomin et collaborateurs (1987) démontrèrent aussi, en enregistrant extracellulairement des potentiels d'action des interneurones et les utilisant pour initier le moyennage des DRPs, que l'activité de certains interneurones situés dans le noyau intermédiaire corrélait avec les DRPs; ce qui suggéra qu'une classe d'interneurones serait responsable de l'inhibition présynaptique des afférences terminant dans ce noyau. De plus, les études comparatives de la facilitation des PADs évoquées par la stimulation intraspinale avec divers inputs périphériques et descendants suggèrent que la cible de ces inputs semble être principalement l'interneurone de premier ordre de la voie des PADs (Rudomin et al. 1983, 1986).

## **4.5 L'organisation des voies de PADs**

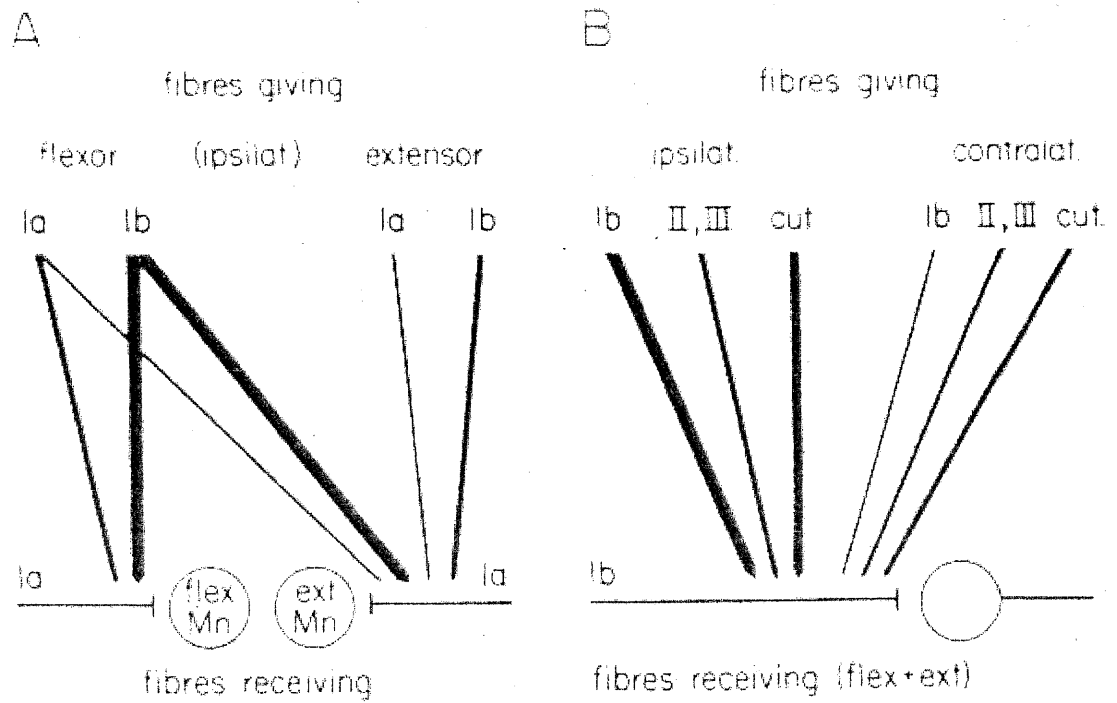
L'organisation des voies de PADs peut être discutée dans les mêmes termes que pour les voies réflexes. En effet, les inputs sensoriels allant aux interneurons des PADs sont aussi nombreux et multimodaux que ceux allant aux interneurons des voies réflexes et, tout comme les voies réflexes, la voie des PADs peut être activée par des inputs descendants et en provenance du CPG (voir section 2). Ainsi, de façon correspondante à l'analyse qui fut faite pour les voies réflexes, on entreprit d'abord l'étude de ces voies chez l'animal anesthésié en décrivant leurs inputs en fonction de leur cible. Puisque notre intérêt de recherche porte sur la transmission sensorielle des afférences musculaire de groupe I, nous nous restreindrons à détailler l'organisation des voies de PAD contactant ces afférences.

### ***4.5.1 Sources d'activation***

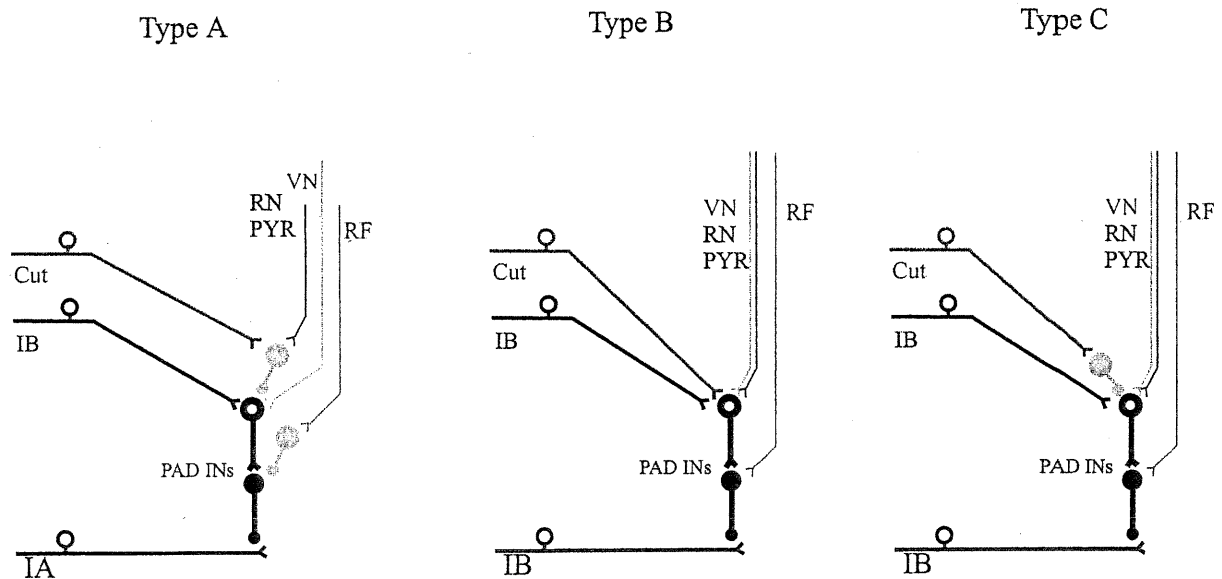
On mit d'abord en évidence certaines différences quant à l'efficacité de diverses sources sensorielles à produire des PADs dépendant du type d'afférences où projettent ces voies. D'une part, on décrivit, pour ce qui est des afférences de groupe IA en provenance des extenseurs, qu'elles étaient dépolarisées par des volées des afférences IA et IB en provenance des fléchisseurs et des extenseurs, alors que les afférences de groupe IA en provenance des fléchisseurs étaient dépolarisées par des volées des

afférences IA et IB en provenance des fléchisseurs. De plus, on nota que les fibres IB des muscles fléchisseurs constituaient la source la plus puissante de PAD autant dans les afférences IA des extenseurs que des fléchisseurs. D'autre part, on fit l'observation que les afférences de groupe IB, des extenseurs comme des fléchisseurs, sont dépolarisées par les afférences cutanées et musculaires de groupe II, III et IB, ce dernier type étant le plus efficace encore une fois (Schmidt 1971 voir Figure 3).

Par la suite, d'autres études utilisant la méthode de Wall chez le chat anesthésié ont plutôt classifié les afférences musculaires en trois types (A,B,C), selon l'action que produisaient sur celles-ci diverses sources sensorielles et supraspinales via les voies des PADs (voir Figure 4). Ils nommèrent les afférences de type "A" celles qui étaient dépolarisées par les inputs des groupe I et des noyaux vestibulaires alors que les inputs cutanées, de la formation réticulée bulbaire, du noyau rouge et de la voie pyramidale ne produisaient pas de PAD mais pouvaient les inhiber. Les afférences de type "B" étaient dépolarisées par les inputs des groupe I, des voies rubro-, réticulo- et corticospinale et des afférences cutanées. Finalement, les afférences de type "C" possédaient le même patron de réponses que le type B sauf pour ce qui est de l'input cutané qui inhibait la PAD (Rudomin et al. 1983, 1986). Ces études suggèrent de plus que ces différents modèles de réponses seraient produits par l'intermédiaire d'au moins trois voies des PADs distinctes.



**Figure 3:** Sources sensorielles dépolarisant les afférences musculaires de groupe IA (A) et IB (B). L'épaisseur des flèches représente l'importance relative de chaque source. A) Inputs ipsilatéraux dépolarisant les afférences IA des muscles fléchisseurs (gauche) et extenseurs (droite). B) Inputs ipsilatéraux et contralatéraux dépolarisant les afférences IB des fléchisseurs et des extenseurs. (Tiré de Schmidt 1971).



**Figure 4:** Schématisation des trois patrons de réponses produits dans les afférences musculaires de groupe I. A) Les inputs musculaires de groupe I et des noyaux vestibulaires (VN) produisent des PADs dans ces afférences alors que les inputs cutanés (Cut), de la formation réticulée bulbaire (RF), du noyau rouge (RN) et de la voie pyramidale (PYR) inhibent les PADs. B) Les inputs musculaires de groupe I, des voies rubro-, réticulo- et corticospinale et des afférences cutanées produisent des PADs dans ces afférences. C) Les inputs musculaires de groupe I, des voies rubro-, réticulo- et corticospinale produisent des PADs dans ces afférences alors que les afférences cutanées inhibent les PADs. (D'après Enriquez et al. 1996)

Une plus récente étude du même groupe utilisant la méthode d'enregistrement intra-axonal permettant une identification fonctionnelle des afférences a montré que le type A se retrouvait dans 52% des afférences de groupe IA et dans 11% des groupe IB, que le type B se retrouvait dans 26% des fibres IA et 35% des fibres IB et finalement que le type C se retrouvait dans 13 % des fibres IA et 54% des fibres IB (Enriquez et al. 1996). Ainsi l'organisation de ces trois voies des PAD ne serait strictement pas fonction des afférences qu'elles contactent. D'ailleurs, Rudomin et ses collaborateurs ont pu démontrer, à l'aide de deux microélectrodes intraspinales mesurant la variation d'excitabilité, que deux collatérales d'une même afférence de groupe I pouvaient avoir des modèles de réponses différents (Quevedo et al. 1997, Eguibar et al. 1997, Lomeli et al. 1998). Ainsi, l'organisation des voies des PADs serait plutôt spécifique à chaque collatérale. Cette idée attrayante n'a pas été démontrée par un autre groupe. On ne sait pas non plus si cette spécificité de PADs dans les collatérales est mise en oeuvre lors du mouvement.

Par ailleurs, des enregistrements faites chez le chat lors de la locomotion fictive en l'absence de toute stimulation ont permis de mettre en évidence l'action tonique et phasique du CPG sur les voies des PADs aux afférences musculaire de groupe I. D'une part, il fut récemment observé que les EPSPs monosynaptiques enregistrés dans les motoneurones de la moelle lombaire étaient réduits lors d'un épisode locomoteur induit par la stimulation de la MLR suggérant que le CPG induirait une inhibition présynaptique tonique des afférences IA (Gosgnach et al. 2000). D'autre part, l'enregistrement des DRPs et des décharges antidromiques lors de la locomotion fictive spontanée chez le chat décérébré ont montré que ceux-ci variaient en fonction du cycle locomoteur. En effet, le décours cyclique des DRPs prenait la forme de deux vagues: l'une en flexion, l'autre en

extension; alors que des décharges antidromiques surviennent en bouffées phasiques (Dubuc et al. 1985, 1988; Beloozerova et Rossignol 1999). Les mesures d'excitabilité des afférences musculaires de groupe IA et IB entreprises par Baev et Kostyuk (1982) lors de la locomotion fictive du chat suggérèrent une dépolarisation maximale de ces afférences lors de la phase d'extension alors que des études entreprises par Duenas et Rudomin en 1988 montrèrent plutôt une dépolarisation maximale en flexion. Finalement, les mesures plus directes des PADs dans les afférences musculaires de groupe I enregistrées de façon intraaxonale lors de la locomotion fictive du chat démontrèrent deux pics de dépolarisation, un maximum en flexion et un autre en extension (Gossard et al. 1991).

Ainsi, ces manifestations toniques ou phasiques furent attribuées à l'activation de la voie des PADs par le CPG. Or, par la suite, il fut démontré, par l'enregistrement intracellulaire simultané d'une afférence IA et d'un motoneurone qu'elle contacte, que l'EPSP unitaire était de plus grande amplitude quand le motoneurone était dépolarisé peu importe l'amplitude du PAD dans l'afférence (Gossard 1996). Ceci suggère que ces PADs "locomotrices" ne sont probablement pas associés à une importante inhibition de la transmission sensorielle. Ainsi, il est possible que les PADs locomotrices ne soient pas dûe à l'activation des interneurons GABAergiques responsables de l'inhibition présynaptique mais à d'autres mécanismes peu spécifiques telle que des variations de concentration extracellulaire en ions potassiques.

#### **4.5.2 Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique**

Pour nous qui mettons l'emphase sur le contrôle sensoriel des circuits spinaux, les données de la section précédentes soulignent d'importants préceptes. D'abord, les afférences sensorielles peuvent activer des interneurones de PAD projetant sur des afférences de même modalité, une connectivité qui s'apparente au dispositif de rétroaction négative (Schmidt 1971 Baldissera et al. 1981, Zytnicki et Jami, 1998). De plus, les PADs peuvent être produites dans une afférence primaire par d'autres types d'afférences de modalité différente. Comme nous l'avons vu dans la section 3.1, une telle convergence d'inputs sensoriels multimodaux pourrait être un moyen efficace pour moduler l'inhibition présynaptique. En fait, le recrutement simultané de divers inputs excitateurs à la voie des PADs, induirait une plus grande inhibition de la transmission sensorielle, alors que le recrutement d'inputs inhibiteurs pourrait diminuer l'inhibition produite par une source de PAD. D'autre part, comme les données ci-haut mentionnées le suggèrent, il y aurait de plus des sous-populations d'interneurones des PADs formant des voies parallèles et générant des modèles de réponses distinctes. Ainsi, les interactions sensorielles pourraient être un moyen de sélectionner une de ces voies plutôt qu'une autre. Il est donc primordial d'élargir notre compréhension de l'interaction multi-sensorielle au niveau des voies des PADs et c'est justement le focus de ma recherche au doctorat.



#### **4.6 Contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique lors de la locomotion**

De la même manière que les réflexes, les voies de l'inhibition présynaptique ne seraient pas organisées de façon rigide mais leur transmission, ou leur gain, varierait en fonction de l'état global de l'organisme comme nous le verrons dans cette section. En fait, à cause de la flexibilité dépendante du contexte de ces voies, l'étude de leur action sur les afférences primaires ou sur la transmission sensorielle n'est possible qu'en présence de commandes motrices organisées et donc chez l'animal non-anesthésié. Or, les études précédentes portant sur l'inhibition présynaptique des afférences sensorielles évoquées par des inputs sensoriels et supraspinaux ont été faites, pour la plupart, chez le chat anesthésié. En fait, la transmission dans la voie des PADs lors de la locomotion du chat a rarement été examinée mais les études suggèrent qu'il y ait une modulation tonique et phasique de l'inhibition présynaptique évoquée par diverses sources. Nous allons ici nous concentrer sur les quelques données indiquant ce qu'il advient du contrôle multisensoriel de l'inhibition présynaptique des afférences musculaires de groupe I lors de la locomotion.

Il est d'abord notable que les stimulations sensorielles évoquent des PADs d'amplitude substantielle lors de la locomotion fictive chez le chat (Dubuc et al., 1988; Gossard and Rossignol 1990; Gossard et al. 1990; Gossard 1996). De plus, des études récentes enregistrant des radicelles dorsales ont montré que le nombre d'afférences acheminant des décharges antidromiques augmente dramatiquement lors de la locomotion sur tapis roulant en comparaison à la locomotion fictive (passe de 20 à 80%) ce qui laisse supposer que la rétroaction sensorielle est une source importante d'activation de la voie

des PADs (Beloozerova et Rossignol 1999). D'ailleurs, des études entreprises chez l'humain, lors de mouvements rythmiques passifs des jambes produisant des contractions musculaires comparables à celles lors du repos, ont suggéré que l'input musculaire produit par de tels mouvements atténuait le réflexe H du soléaire via l'inhibition présynaptique (Brooke et al., 1995; Misiaszek et al., 1995). De plus, d'autres études ont montré que la stimulation du nerf plantaire médian atténuait le réflexe H au cours du cycle de marche alors qu'elle n'avait que peu d'effet au repos chez l'humain (Fung et Barbeau 1994). Aussi, suite au passage de l'état de repos à l'état locomoteur, il fut rapporté une réorganisation de l'effet des FRA au niveau des afférences FRA et IA. En effet, chez le chat spinal, une stimulation des FRA produit un PAD dans les FRA mais non dans les afférences IA alors que chez le chat spinal injecté de L-Dopa pour activer la voie noradrénergique induisant la locomotion, la stimulation de FRA produit un PAD de longue latence et longue durée dans les IA et non plus dans les FRA (Andén et al. 1966c).

D'autre part, le CPG, comme on l'a mentionné plus haut, produit des vagues de dépolarisation dans les afférences musculaires de groupe I. Ainsi, l'interaction de l'input en provenance du CPG et des inputs sensoriels pourrait moduler l'inhibition présynaptique des voies réflexes sensorielles. Une modulation phasique de l'inhibition présynaptique pourrait assurer que ces voies réflexes produisent leurs actions seulement dans la phase appropriée du cycle locomoteur. Cependant, les patrons de modulation des PADs évoqués par une source sensorielle ont rarement été étudiés. Les enregistrements de DRPs évoqués par une stimulation des nerfs cutanés et musculaires ont d'abord montré que leur amplitude variait au cours du cycle locomoteur fictif montrant un maximum lors de la phase d'extension (Gossard et Rossignol 1990). Des études plus détaillées faites par

l'enregistrement intra-axonal des afférences cutanées ont rapporté un patron unique de modulation de PAD (maximum en extension) évoquées par une source cutanée dans toutes les afférences, qu'elles innervent la surface ventrale ou dorsale de la patte arrière (Gossard et al. 1990). En ce qui concerne la modulation phasique des inputs musculaires, une étude des DRR produits par des stimulations cutanées et musculaires et enregistrées dans les afférences du triceps sural pendant la marche réelle du chat montre un maximum en flexion (Duenas et al. 1990).

La modulation de la transmission dans la voies des PADs pourrait être causée par les vagues de dépolarisation qu'induit le CPG dans les afférences primaires. En effet, cette variation phasique de polarisation pourrait altérer l'excitabilité des fibres qui sont à la source, et les fibres qui reçoivent, la PAD. Cependant, ces vagues de polarisation de type "locomoteur" suivent un patron similaire dans une majorité d'afférences primaires, qu'elle proviennent de muscles fléchisseurs ou extenseurs, de la face dorsale ou ventrale de la patte. Toutes semblent montrer de légères variations d'un patron unique, soit deux dépolarisations par cycle locomoteur dont la plus grande est en flexion (Dubuc et al. 1988; Gossard et al. 1991; Gossard 1996). Or, ce patron ne coïncide pas avec ceux des DRPs et des PADs dans les afférences cutanées évoquées par des stimulations sensorielles, qui sont en général maximales en extension. Il s'avère donc que les vagues de dépolarisation de type locomoteur ne seraient pas les uniques responsables de la modulation des PADs d'origine sensorielle. En revanche, le CPG pourrait moduler la transmission dans les voies des PADs en changeant l'excitabilité des interneurons de cette voie. Il serait en fait avantageux, pour les réseaux générant la locomotion, de réguler du même coup, et l'output moteur et l'input sensoriel.

## **5. PROJET DE RECHERCHE**

En résumé, il est possible que l'état locomoteur amène une réorganisation des voies des PADs de telle sorte que l'interaction entre les divers systèmes de contrôle qui y convergent soit modifiée. Une telle modification entraînerait une modulation de l'inhibition présynaptique des afférences musculaires de groupe I et par conséquent, une modulation de la transmission sensorielle dans ces voies réflexes. Fonctionnellement, cela pourrait faire en sorte que les inputs proprioceptifs produisent leurs actions réflexes au moment opportun pour optimiser le patron locomoteur.

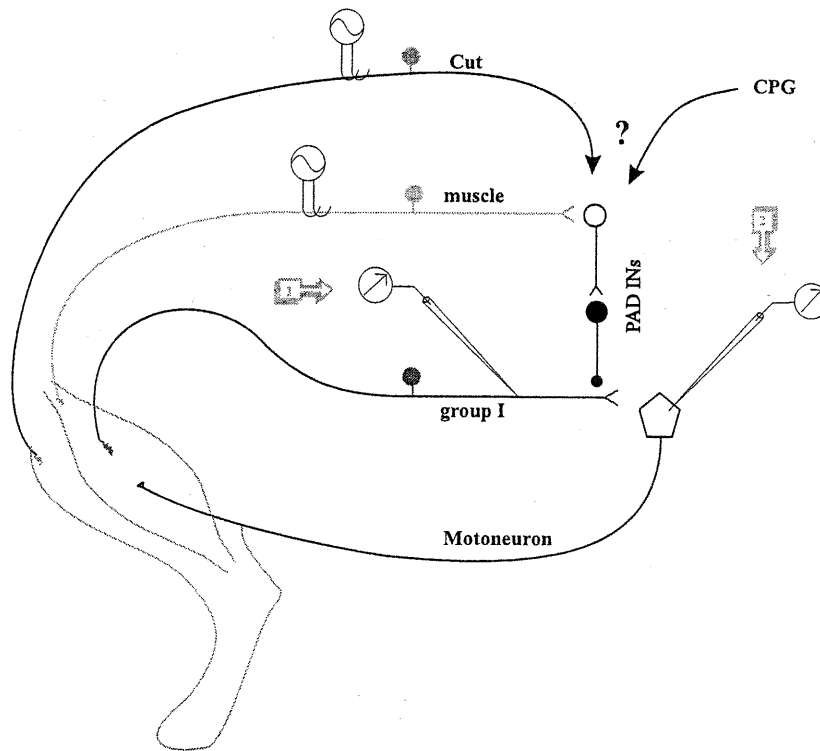
Dans cette optique, nous avons entrepris l'étude électrophysiologique du contrôle sensoriel de l'inhibition présynaptique des inputs musculaires de groupe I lors de la locomotion fictive. Une étude que nous avons subdivisée en trois volets (Voir Figure 5). Première auteure des 3 manuscrits qui en sont tirés, ma contribution à l'écriture a été majeure, originale et indépendante (cf. Guide FES, p.35)

1- D'abord nous avons voulu vérifier quelle est l'interaction entre les inputs sensoriels et les inputs en provenance du CPG au niveau de la voie des PADs produisant l'inhibition présynaptique des afférences musculaires de groupe I. Pour ce faire, nous avons mesuré, à l'aide d'enregistrements intra-axonaux, les PADs évoquées par une source musculaire dans les afférences musculaires de groupe I identifiées lors de la locomotion fictive pour déceler le contrôle phasique attribuable au CPG.

2- Ensuite, nous nous sommes intéressés à ce qu'il advenait, lors de la locomotion, de l'interaction entre diverses modalités sensorielles au niveau de la voie des PADs produisant l'inhibition présynaptique des afférences musculaires de groupe I. Pour ce faire, lors de la locomotion fictive, nous avons mesuré, à l'aide d'enregistrements intra-axonaux, l'action de plusieurs sources cutanées sur les PADs évoquées par une source musculaire dans les afférences musculaires de groupe I.

3- Finalement, nous nous sommes questionnés sur l'impact de cette interaction multisensorielle au niveau des voies des PADs sur l'inhibition présynaptique de la transmission des inputs des afférences musculaire de groupe IA. Pour ce faire, nous avons mesuré comment l'amplitude des EPSPs monosynaptiques, enregistrés intracellulairement au niveau de motoneurones identifiés lors de la locomotion fictive, était modifiée par la stimulation combinée d'inputs cutané et musculaire au niveau des voies des PADs.

La grande difficulté, et l'originalité, de ces trois projets vient du fait que les enregistrements intracellulaires doivent être réalisés en présence d'un programme locomoteur. Or, la locomotion fictive, qui est la seule condition permettant de tels enregistrements, est très difficilement contrôlable expérimentalement. Dans les expériences retenues, cette locomotion était, soit spontanément présente après décérébration, soit induite par stimulation électrique mésencéphalique chez le chat décérébré, soit induite pharmacologiquement chez le chat spinal.



**Figure 5:** Schématisation des voies de PADs sous étude. Une stimulation des afférences musculaires (gris) active les interneurons des PADs contactant les afférences musculaires de groupe I (noir) 1) L'enregistrement intra-axonal des PADs permet d'évaluer l'interaction des inputs musculaires, cutanés et du CPG dans la voie des PADs. 2) L'impact de cette interaction sur la transmission sensorielle est évalué en enregistrant les potentiels postsynaptiques excitateurs monosynaptiques dans les motoneurons.

## **ARTICLE #1**

### **The modulation of presynaptic inhibition in single muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat**

par

Ariane Ménard, Hugues Leblond and Jean-Pierre Gossard

The journal of neuroscience 1999, 19(1):391-400

## **ABSTRACT**

---

The aim of this study is to understand the functional organization of presynaptic inhibition in muscle primary afferents during locomotion. Primary afferent depolarization (PAD), associated with presynaptic inhibition, was recorded intra-axonally in identified afferents from various hindlimb muscles in L6-L7 spinal segments during fictive locomotion in the decerebrate cat. PADs were evoked by the stimulation of peripheral muscle nerves and were averaged in the different epochs of the fictive step cycle. Fifty-three trials recorded from 39 muscle axons (37 group I and 2 group II) were retained for analysis. The results showed that there was a significant phase-dependent modulation of PAD amplitude ( $p < 0.05$ ) in a majority of muscle afferents (30/39: 77%). However, not all stimulated nerves led to significantly modulated PADs in a given axon (36/53 trials; 68%). We also observed that the pattern of modulation (phase for maximum and minimum PAD amplitude and the depth of modulation) varied with each recorded afferent as well as with each stimulated nerve. We further evaluated the effect of PAD modulation on the phasic transmission of the monosynaptic reflex (MSR) and found that PADs decreased the MSR amplitude in all phases of the fictive step cycle, independent of the PAD pattern in individual group I fibres. We conclude that 1) PAD modulation patterns of all group I fibres contacting motoneurons led to an overall reduction in monosynaptic transmission and 2) individual PAD patterns could participate in the control of transmission in specific reflex pathways during locomotion.

**Key words:** primary afferent depolarization (PAD), presynaptic inhibition, muscle group I fibres, fictive locomotion, spinal cord, motor control.



## **INTRODUCTION**

---

Although the central pattern generator (CPG, see Grillner, 1981) in mammalian spinal cord is able to produce complex locomotor patterns in absence of sensory input, sensory feedback in general, and proprioceptive input in particular, is needed for adaptive modifications of the step cycle (see Rossignol, 1996). For instance, proprioceptive input from muscles is used to adjust the timing and the amplitude of muscle contractions during the different phases of the step cycle (Conway et al., 1987; Gossard et al., 1994a; Hiebert et al., 1996; McCrea et al., 1995; Pearson and Duysens, 1976). To be meaningful, the efficacy of proprioceptive feedback must be phasically controlled so as to induce adaptive responses in the proper phase of the locomotor cycle. Peripheral (e.g. gamma innervation of muscle spindles) as well as central mechanisms participate in the phasic modulation of transmission in proprioceptive pathways.

One powerful central mechanism by which the CPG could control sensory feedback is presynaptic inhibition of primary afferent terminals. Indeed, there are GABAergic interneuronal networks in the spinal cord capable of decreasing transmitter release by evoking a primary afferent depolarization (PAD) through axo-axonic contacts (Eccles, 1961; Nicoll and Alger, 1979; Schmidt, 1971). Presynaptic inhibition has often been proposed to explain changes in the amplitude of the monosynaptic reflex (MSR) during walking in humans (Stein and Capaday, 1988; Yang and Whelan, 1993). Moreover, when PADs reach firing threshold, the evoked discharges are antidromically propagated in

primary afferent axons and may collide with incoming volleys and even change the excitability of peripheral sensory receptors (Ito, 1968; Lindblom, 1958, Loewenstein, 1959, Tonnes, 1939, Bévengut et al., 1997). For example, rhythmic bursts of antidromic discharges can be found in a majority of cut dorsal rootlets of decerebrated cats walking on a treadmill (Beloozerova and Rossignol, 1994, 1995). The phasic timing of such discharges suggests that the underlying PADs are strongly influenced by the CPG. It is thus important to know more on the role of PAD pathways in the control of locomotion. There are, however, few studies focussed on the transmission in PAD pathways during locomotion in mammals. Duenas et al. (1990) evoked antidromic discharges in dorsal rootlets belonging to the triceps surae muscles, by stimulating cutaneous nerves during stepping in thalamic cats, and found that maximal discharges occurred during the extensor phase of the step cycle. Similarly, previous intracellular studies of PADs in cutaneous afferents during fictive locomotion showed that the amplitude of the evoked PAD was maximal during the extensor phase (Gossard et al., 1990; see also Gossard and Rossignol, 1990). To our knowledge, there is yet no study investigating directly the changes in PAD amplitude in individual muscle afferents during locomotion. We thus used intra-axonal recordings to study PADs in single primary afferents from hindlimb muscles of the decerebrate cat during fictive locomotion. We also evaluated directly, and for the first time, the effect of PADs on the MSR amplitude during fictive locomotion. Some of the results have been previously reported in abstract form (Ménard et al., 1997).

## **METHODS**

---

### ***Preparation***

The experiments were performed on 21 cats of either sex (2.5- 4.3 kg). All animal experiments were conducted according to the *Guide for the Care and Use of Experimental Animals* (Canada), using protocols approved by the *Ethics Committee of Universite de Montreal*. Cats were first anaesthetized by inhalation of a mixture of halothane (usually 2.0-3.0%) oxygen (50%) and nitrous oxide (50%) through a mask and then through an intratracheal tube for the rest of the surgery. Cannulae were inserted in the right common carotid artery for monitoring the blood pressure and in one jugular vein and one cephalic vein for administration of fluids. All animals received an intravenous injection of prednisolone sodium succinate (Solu-delta-cortef, 1mg/kg) to minimize the shock and brainstem swelling following decerebration and, when necessary, norepinephrine bitartrate (Levophed) was given to maintain blood pressure within physiological limits. A subcutaneous injection of atropine sulfate (0.4 mg) to prevent excessive secretions was performed as well as an intramuscular injection of furosemide (Lasix, 5mg/kg) when a diuretic effect was desired.

The following selected flexor and extensor muscle nerves from the left hindlimb were dissected free and mounted on bipolar silver chloride electrodes for recording

(electroneurogram, ENG) and stimulation purposes: posterior biceps-semitendinosus (PBSt), semimembranosus-anterior biceps (SmAB), lateral gastrocnemius-soleus (LGS), medial gastrocnemius (MG), plantaris (PI), flexor digitorum longus and flexor hallucis longus together (FDHL), the rest of tibial posterior (Tib), tibialis anterior and extensor digitorum longus together (TA/EDL) and the sciatic (Sci) nerve just below PBSt. Among these nerves, only PBSt and SmAB were cut.

After a laminectomy exposing spinal segments L4-L7, the cats were transferred to a stereotaxic frame and an extensive craniotomy was performed. The cat was then decerebrated by making a pre-collicular, post-mammillary transection with a spatula and removing the rostral brain tissue by aspiration. Anaesthesia was discontinued and the cats were paralysed with gallamine triethiodide (Flaxedil; 10 mg/kg supplemented every 45 minutes) and artificially ventilated maintaining the expired CO<sub>2</sub> near 4%. Pools were constructed with the skin flaps surrounding the spinal cord and the hindlimb nerves and filled with warm mineral oil. Both body and pool temperature was kept near 38°C with radiant heat lamps. When necessary, a bilateral pneumothorax was performed to minimize respiratory movements and to stabilize intra-axonal recordings.

In the decerebrate cats, fictive locomotion, when not present spontaneously (Gossard, 1996), could be initiated by exteroceptive stimulation of various parts of the body or by electrical stimulation (15-40Hz, 20-150 $\mu$ A) with a low impedance tungsten electrode in the mesencephalic locomotor region (MLR; Shik et al., 1966). In spinalized animals (T13), episodes of fictive locomotion were induced by the injection of nialamide (50mg/kg)

and L-DOPA methyl ester (100-150mg/kg; Jankowska et al. , 1967a, 1967b) or clonidine (250 $\mu$ g/kg).

### ***Recording and stimulation***

A silver chloride ball electrode was placed on the cord dorsum to record the afferent volleys from the dorsal root entry zone. The threshold for the most excitable fibres in the nerve (1T) was determined as the stimulus strength required to just evoke a deflection in the cord dorsum potential (CDP). Stimulus intensity was expressed as a multiple of the threshold. Intra-axonal recordings were made with glass micropipettes filled with K<sup>+</sup> acetate (10-25 M $\Omega$ ) lowered at a 15° angle from vertical, near the dorsal root entry zone of segments L6 to L7 and up to 1.2 mm deep. Only axons with a 40mV spike, a membrane potential more negative than -40 mV and a stable DC signal were accepted for study.

Muscle afferents were identified by different physiological criteria (see Gossard, 1996): 1) threshold for activation (<2.0T for group I, 2.0-5.0T for group II); 2) the ability to follow electrical stimulation of the muscle nerve at high frequency (>500 Hz) with a short and constant latency and the absence of a pre-potential on the evoked spike; 3) conduction velocity as estimated by dividing the nerve length, measured at the end of the experiment, by the latency of the response. Unfortunately, IA and IB fibres could not be

fully characterized in such preparation because of the limited access to muscles in the oil pool, cut nerves and curarization. PADs were evoked by stimulating a peripheral muscle nerve (e.g. PBSt) usually with 3 shocks or pulses (p) at 300 Hz (Eccles, 1961) and with 2-5T. This stimulation intensity usually evoked PADs of amplitude which could be easily measured without reaching the firing threshold.

Fig. 1 is a schematic illustration of the neuronal circuitry involved in this study. Stimulation of peripheral muscle nerves, given at random times (up to 3 times a second) during the fictive locomotor cycle, was used to activate PAD interneurons (PAD INs) mediating presynaptic inhibition via axo-axonic synapses at the terminals of the recorded muscle afferents. After successful PAD recording, the micropipette was drawn just outside the axon to record the extracellular field potential evoked by the same stimulation. As seen in the inset of Fig.1, the amplitude of the averaged extra-axonal potential was negligible. The inhibitory effect of PAD on synaptic transmission was evaluated by measuring the amplitude of the monosynaptic reflex (MSR) with and without PAD. At first, heteronymous MSRs were evoked (as shown in Fig.7A) by stimulating the LGS nerve (1 p, 2T) while recording from the MG nerve or conversely. Then, the PBSt nerve was stimulated 20-25 msec before the MSR stimulation in order to evoke the MSR at the peak of PAD. In both situations, the MSR amplitude was measured from the rectified and low-pass filtered ENG activity. When possible, an intra-axonal recording of a stimulated group I fibre was performed simultaneously, in order to directly measure the modulation of PAD amplitude during the same episode of fictive locomotion, or during a preceding, or following, episode of locomotion.

ENG activities of the different muscle nerves were recorded using differential AC amplifiers. The signals were filtered (10Hz - 10kHz) and visualized (Labview: National Instruments) to monitor the locomotor patterns. All signals were recorded on videotape after digitization (Vetter 4000A; 15 channels with 200 $\mu$ s risetime/channel).

### ***Data collection and analysis***

Tapes were played back off-line on an electrostatic printer (Gould ES-1000) and sections of data suited for analysis were digitized and analyzed with interactive custom-made software (Spinal Cord Research Centre, Univ. of Manitoba, Winnipeg).

The locomotor cycle, defined as the period between the onset of two successive bursts of ENG activity in flexors, was normalized to the duration of the averaged cycle and divided in 10 equal portions or "bins". All PADs occurring in a given bin were averaged over the entire locomotor episode. Phase plots of PAD amplitude were constructed by plotting the averaged integrated amplitude of PADs grouped in different bins as percentage of the largest response (see Gossard et al. 1990). These plots were aligned with the averaged rectified ENG activities of a flexor and an extensor, determining the locomotor phases, for examination of temporal relationships. The MSRs were also averaged within each bin of the fictive step cycle and the averaged integrated amplitude of MSRs were

used to construct phase plots of MSR amplitude with and without PAD (see Fig.7).

Phase plots retained for statistical analysis had averages of at least ten PADs in a majority of bins. At first, Kolmogorov-Smirnov Lilliefors test was used to compare the shape and location of the sample distribution (standardized measures of PAD within a bin) to the standard normal distribution. This test confirmed that the sample variables did not follow normal distribution and subsequent nonparametric tests were thus performed. The Mann and Withney (U) test was used to compare, pair by pair, the rank values of the variables from the bin with the largest mean with rank values of every other bin. This test was thus performed for each bin. The same statistical analysis was performed for phase plots of MSR amplitude with and without PAD. The "strength" of modulation was estimated by the number of significant bins. On the phase plots, standard error of the mean (SEM) are illustrated and the significantly modulated bins are pointed out by asterisks ( $p < 0.05 = *$ ).



## **RESULTS**

---

### *Phasic modulation of PAD amplitude in muscle afferents*

The modulation of PAD amplitude was examined in details and plotted (phase plot, see Methods) for all selected trials. Examples of the raw recorded signals and the corresponding phase plot obtained from one axon are illustrated in Fig.2 and Fig.3A respectively. Fig.2 shows an intra-axonal recording of a SmAB group I fibre in which PADs were evoked during a period of fictive locomotion. Fictive step cycles, identified as alternating ENG activities in flexor (TA/EDL) and extensor (PI) nerves, were induced by injection of nialamide and L-DOPA in a spinalized cat. The PADs in this axon were produced in response to PBSt nerve stimulation (3p, 5T, 300Hz) given in the various phases of the locomotor cycle and are also presented as traces tilted 90° overlying the intra-axonal signal with a shorter time scale. In this case, the largest PADs (third and sixth traces) occurred only during the flexor phase (TA/EDL bursts) and reached the firing threshold leading to antidromic discharges. The phasic modulation of PAD amplitude (without antidromic discharges) of this SmAB axon is also shown in the phase plot of Fig.3A. As previously depicted in Fig.2 by the presence of antidromic discharges, the averages confirmed that the maximal PAD amplitude occurred during the flexor phase. More specifically, the PAD amplitude in Fig.3A was maximal at the beginning of the flexor phase, then decreased to reach a minimum in the first half of the extensor phase and increased again for the rest of that phase.

Overall, 70 trials were recorded in 51 fibres. Fifty-three trials, taken from 39 fibres (37 group I and 2 group II) were retained for analysis (see Methods). Thirty-six out of 53 trials (68%), coming from 30 muscle axons, had at least one bin significantly different from the maximal one ( $p < 0.05$ ) and were thus considered significantly modulated (7/11 PI, 8/12 LGS, 4/4 SmAB, 1/1 MG, 4/6 TA/EDL, 6/8 TiB, 6/10 FDHL, 0/1 PBSt). The depth of modulation for the 36 trials varied from 13 to 80% (average 34.5%). The results thus demonstrate that there was a significant phasic modulation of PAD amplitude in a majority of muscle afferents during fictive locomotion. Significant modulation was obtained in axons recorded from different locomotor preparations: 21/53 were taken from episodes of spontaneous locomotion in 7 decerebrate cats, 9/53 from MLR-evoked locomotion in 4 decerebrate cats, 21/53 from 8 spinal cats injected with nialamide and L-DOPA and 2/53 patterns were recorded during fictive locomotion induced by the injection of clonidine in one spinal cat. Overall, the phasic modulation of PADs was observed in 9 decerebrate cats (24/32 trials) as well as in 8 spinal cats (12/21 trials) and no clear differences could be observed between the two.

The extent of modulation in PAD pathways present in both preparations (decerebrate vs spinal) could actually be compared within the same cat ( $n=2$ ). For example, Fig.3 depicts the PAD modulation obtained from two SmAB group I fibres recorded before (B) and after (A) spinalization. The PADs were evoked by the same PBSt nerve stimulation and were recorded during episode of fictive stepping with similar characteristics (levels of ENG activities and cycle duration). The two patterns of modulation of PAD amplitude shows some similarity, i.e. maximal PAD during the flexor phase and minimal during the early extension phase. However, even though the depth of modulation

appears larger in Fig.3B than in Fig.3A, there was a smaller number of significantly modulated bins before spinalization probably because there was more variability in the response amplitude (larger SEM). These results clearly indicate that the activity of spinal locomotor networks alone are able to phasically modulate the PAD pathways.

### ***Patterns of phasic modulation of PADs***

We further investigated whether the pattern of phasic modulation of PAD amplitude was the same for different types of afferents as it was the case in cutaneous fibres (Gossard et al., 1990). For all trials, we compared the phases for maximal and minimal PAD amplitude, the depth of modulation, the pattern of modulation i.e. the time course of amplitude modulation and the number of bins significantly modulated. As illustrated in Figs. 4-7, the results showed that there was clearly no single pattern in muscle afferents but that PAD modulation varied with every recorded afferent.

We first restricted our analysis to trials in which PADs were evoked by the same peripheral nerve stimulation, i.e. PBST. Fig.4 shows examples of PAD modulation obtained in 2 muscle group I fibres coming from two different muscles of the ankle (TA/EDL and Tib), evoked in both cases by PBSt nerve stimulation during episodes of spontaneous fictive locomotion in the same decerebrate cat. Fig.4A shows that the averaged PAD amplitude in the TA/EDL group I fibre was significantly modulated throughout the fictive locomotor cycle with an impressive depth of modulation. The PAD amplitude was

maximum during most of the flexor phase, decreased during the transition to the extensor phase and became minimal throughout this latter phase. The averaged amplitude of PADs recorded in the Tib fibre, plotted in Fig.4B, was not as strongly modulated as in TA/EDL fibre and followed a different pattern of phasic modulation. The PAD amplitude gradually decreased during the flexor phase to reach a minimum at the transition between the flexor and the extensor phases; it then increased from this point on to a maximum at the end of the extensor phase.

Differences in patterns of modulation in PAD amplitude were not only observed between afferent fibres coming from synergist or antagonist muscles but also between fibres coming from the same muscle. For example, we succeeded to record one pair of fibres coming from the same muscle (2PI, 2FDHL, 2Tib, 2LGS) in 4 different cats. In each pair, PADs were evoked by the stimulation of the same nerve during similar episodes of fictive locomotion. In every case, the comparison of patterns of modulation in both fibres revealed clear differences for the phases of maximum and minimum PAD amplitude and differences in the number of significant bins (see examples later in Fig.7B).

In Fig.5, we grouped all trials with a significant PAD modulation evoked by the stimulation of PBST (n=21). For each trial, the maximal and minimal PAD amplitude (filled and opened circles respectively) are represented relative to the fictive locomotor cycle with the flexor and extensor phases separated by a short vertical line. The number of bins with significant modulation is also given for each trial. In Fig.5A, the trials are grouped according to muscles and, in Fig.5B, they are grouped according to the proportion of the

flexor phase within the locomotor cycle, increasing from top to bottom. Fig.5A shows that the maximal and minimal PAD amplitudes could occur in any of the 10 bins of the fictive step cycle, independent of the muscle of origin. Fig.5B shows that the occurrence of maximal or minimal PAD amplitudes were not related to the locomotor pattern as monitored by the relative durations of flexor and extensor phases within the fictive step cycle.

The above results showed that, surprisingly, the precise PAD pattern varied with every recorded muscle afferent. We further investigated if different afferent input could also evoke specific PAD patterns. We thus stimulated different muscle nerves and compared PAD patterns recorded in the same muscle afferent. Fig.6A-B compares the patterns of modulation of PAD amplitude evoked by the stimulation of two different sources, a proximal muscle nerve (PBSt) and a distal muscle nerve (TA/EDL), recorded in the same PI axon during fictive locomotion induced by nialamide and L-DOPA in a spinalized cat. Fig.6A depicts the results obtained in response to PBSt nerve stimulation (3p, 5T, 300Hz) and shows that the amplitude of PADs was significantly modulated with the maximum occurring at the beginning of the flexor phase and a minimum at the beginning of the extensor phase. In contrast (Fig.6B), the PAD evoked by TA/EDL nerve stimulation at the same relative intensity (3p, 5T, 300Hz) was not significantly modulated. Various sources (2 to 4 nerves) of PADs were investigated in 7 axons. In every case, the number of bins significantly modulated varied with every nerve and only 2 axons showed similar phases for maximum and minimum PAD amplitude. However, we found that, overall, there was a larger proportion of trials with a significant PAD modulation evoked by the stimulation of proximal muscle nerves (PBSt, SmAB;  $25/33 = 75.8\%$ ) than among trials

evoked by the stimulation of more distal muscles nerves (e.g. TA/EDL, GS; 11/19 = 57.9%).

In summary, no clear tendencies in the patterns of modulation in PAD amplitude could be found among the 36/53 trials, even when we restricted our analysis to trials produced by the same stimulation or to afferent fibres coming from the same muscle. The results further suggest that the precise pattern of modulation depended on both, the recorded afferent and, the afferents producing the PAD.

### ***The effect of PAD on MSR during fictive locomotion***

Because PADs produce presynaptic inhibition, we assume that the observed phasic modulation of PAD amplitude in our experiments reflected phasic variations in presynaptic inhibition. The extent of the inhibitory action of PAD modulation during fictive locomotion in our preparations was studied by examining the MSR amplitude with and without PADs. Fig.7 illustrates a typical example of what was observed 7 times in 4 cats. Fig.7A is a schematic representation of the pathways involved in these tests. An heteronymous monosynaptic contact between an LGS fibre and a MG motoneuron is illustrated in the upper diagram with the addition of an inhibitory synapse to the LGS axon terminal from PAD interneurons in the lower diagram. In both situations, an intra-axonal recording of the LGS fibre was performed while the MSR amplitude was measured from the MG ENG (see Methods). Examples of intra-axonal potentials and of the evoked MSR (rectified and

averaged) are given overlying the corresponding neurons in the schema. At first, LGS nerve was stimulated alone. As shown in the upper diagram, this stimulation evoked an action potential (truncated) in the LGS fibre and induced an heteronymous MSR in the MG nerve. Then, the LGS nerve stimulation was preceded by a PBSt nerve stimulation (3 pulses, 5T, 300Hz) by 20-25 msec in order to have the monosynaptic transmission on the top of the evoked PAD (note the action potential over the PAD in the LGS fibre). As shown in the lower diagram (Fig.7A), the evoked MSR (MSR+PAD) induced in this situation was clearly reduced showing the inhibitory effect of PAD on the monosynaptic transmission.

Fig.7B illustrates the patterns of modulation in MSR amplitude with and without PAD during a period of MLR-evoked fictive locomotion in a decerebrate cat. In the top phase plot, the unconditioned MSR (upper pattern, black line) showed a significant modulation with a maximal amplitude during the extensor phase and a minimal amplitude during the flexor phase as previously described (e.g. Akazawa et al., 1982). In the same plot, one can see that the amplitude of the MSR preceded by PADs followed a similar pattern of modulation (gray line) with a maximum amplitude during the extension phase and a minimum during the flexor phase, but the depth of modulation was clearly reduced (overall reduction by 36%). Note also the moderate decrease in SEM of the MSR amplitude following PADs. Similar results were seen in 6 other trials where the MSR was reduced on average by 39%. For the experiment illustrated in Fig.7B, PADs were recorded in two LGS group I fibres. The first one (LGS-1) was recorded simultaneous with the stimulation of MSRs, and the second LGS fibre (LGS-2) was recorded 28 minutes before the MSR stimulation during a similar episode of fictive stepping. The phase plots for those two LGS fibres show quite different PAD modulation patterns. The PAD amplitude in LGS-

1 was strongly modulated (7 bins) with a maximum during the flexion phase while in LGS-2, the PAD amplitude was much less significantly modulated (1 bin) with a maximum occurring during the second half of the extensor phase. There was no obvious relationship between the overall decrease in MSR amplitude shown in the top phase plot (gray line) and the patterns of PAD modulation in LGS-1 or LGS-2. In other words, the PAD patterns of neither axons can explain the phasic modulation of MSR amplitude. The two superimposed traces at the bottom are the ENG activities in the MG nerve in both conditions (with and without PAD) and show that there were no important differences in locomotor activities in the MG nerve during these two tests suggesting that MSR reduction did not result from major changes of excitability in MG motoneurons but was secondary to the PADs.



## **DISCUSSION**

---

### ***CPG-dependent modulation of transmission in PAD pathways.***

Intra-axonal recordings of identified muscle afferents have revealed that PAD amplitude, evoked by muscle nerve stimulation, was phasically modulated during fictive locomotion in a majority of muscle afferents (30/39, 77%). However, not all stimulated nerves led to significantly modulated PADs in a given axon (36/53 trials; 68%). Also, PADs amplitude was significantly modulated during fictive locomotion in both decerebrate and spinal cats and indicates that the spinal cord networks alone are able to modulate the transmission in PAD pathways. It is thus suggested that the CPG for locomotion is largely responsible for the phasic modulation of PADs in muscle group I fibres (Duenas et al., 1990; Gossard et al., 1990; Gossard and Rossignol, 1990; El Manira et al., 1991, 1997; Cattaert et al., 1992; Nusbaum et al., 1996). The potential contribution of supraspinal structures to locomotor presynaptic mechanisms remains presently unknown.

Several hypotheses can be proposed to explain how PAD amplitude is modulated in a phase-dependent manner by spinal locomotor networks. One possibility is the spontaneous cyclic changes of polarization of primary afferents accompanying locomotion (Baev and Kostyuk, 1982; Dubuc et al., 1988; Duenas and Rudomin, 1988; Gossard et al., 1989, 1991). Such CPG-related waves of polarization could alter the excitability of the

stimulated as well as the recorded afferent fibres. However, a previous study showed that the CPG-related waves of polarization followed a similar pattern in all muscle group I afferents (Gossard et al., 1991). This lack of specificity can not explain the wide variety of PAD patterns observed in this study. Moreover, a recent study from our laboratory suggests that the CPG-related waves of polarization in group IA afferents have little effect on the monosynaptic transmission to motoneurons (Gossard, 1996). A simpler explanation is that the CPG affects the transmission in the PAD pathways by changing the excitability of the intercalated interneurons (arrow in Fig.1A).

### ***Organization of presynaptic inhibitory pathways***

A simple pattern of modulation of PAD was previously reported for all cutaneous fibres, with maximum amplitude during the extensor phase of the fictive step cycle, whether they innervated the dorsal or ventral surfaces of the hindpaw (Gossard et al., 1990). In contrast, no clear or simple tendencies in PAD patterns were detected in our sample of muscle afferents whether we focussed on patterns produced by the same stimulation (Fig. 5A) or on fibres originating from the same muscle (e.g. Fig.7B). Also, it is improbable that the different PAD patterns were strictly related to the different patterns of fictive locomotion (Fig. 5B). Overall, the results showed that the precise pattern of modulation depended on both, the recorded fibre and, the fibres producing the PAD (e.g. Fig.6).

The wide variety in patterns of modulation of PAD amplitude may thus indicate that the CPG influence is exerted through multiple subsets of PAD interneurons with a complex connectivity from, and to, muscle group I afferents. First, because the stimulation of two different peripheral nerves evokes two different PAD modulation patterns in the same fibre, a group I fibre should be contacted by at least two different subsets of PAD interneurons. Second, because two afferents from the same muscle may display different PAD modulation patterns evoked by the same stimulation, each group I fibre should also be contacted by specific subsets of PAD interneurons. Complex connectivity of PAD interneurons have already been proposed to explain differences in intraspinal thresholds between IA and IB fibres and also between branches of the same fibre in anaesthetized cats (Equibar et al., 1994, 1997; Enriquez et al., 1996; Quevedo et al., 1997; Rudomin, 1990; Rudomin et al., 1987, 1998). Surprisingly, a similar reduction in intraspinal threshold was found during the flexor phase of the fictive step cycle for both IA and IB fibres and for afferent terminals in the intermediate nucleus and afferent terminals in the motor nucleus (Duenas and Rudomin, 1988). On the other hand, the diversity of PAD patterns observed in this study using intra-axonal recordings did not follow a simple pattern and support strongly that PAD interneurons are indeed functionally subdivided by the CPG for locomotion. Also, a complete characterization of IAs and IBs in our sample could have helped us classify PAD patterns. However, the observed PAD patterns did not fall into two categories as predicted by only two separate PAD subpopulations.

### ***Presynaptic inhibition and the monosynaptic reflex pathway***

The monosynaptic reflex pathway may represent a particular case among spinal cord pathways because each motoneurone in a motor pool receive synaptic contacts from almost all group IA afferents from the homonymous muscle (Mendell and Henneman, 1971). Our results showed that there was an overall reduction of the MSR amplitude (39% on average) by PADs during fictive locomotion but that there was no clear relationship between the phase of maximum PAD amplitude in any *single* group I fibre and the phase of maximum MSR amplitude (see Fig.7B). This lack of relationship is probably due to the fact that the MSR in this study was evoked by an electrical stimulation of a peripheral nerve which activates *all* group I fibres synchronously. In a previous study from this laboratory, the monosynaptic EPSPs evoked by a *single* group IA afferent (unitary EPSPs) was recorded in the target motoneurone during fictive locomotion and showed a clear phase-dependent modulation (Gossard, 1996). However, in the case where all group I fibres are stimulated synchronously (composite EPSPs), one would not expect a clear phase-dependent modulation of EPSPs because of the mix of all the different PAD patterns in the group I fibres. Indeed, monosynaptic EPSPs recorded in motoneurones, in studies using electrical nerve stimulation, showed a weak phase-dependent modulation but a clear "tonic" inhibition (Schomburg and Behrends, 1978; Shefchyk et al., 1984; Gosgnach et al., 1998). This is also consistent with the reduced "gain" of the MSR pathway observed in humans from standing to walking which was attributed to presynaptic inhibition (Stein and Capaday, 1988). As discussed in previous studies (e.g. Jordan, 1983; Shefchyk et al., 1984; Burke, 1987; Burke et al., 1989), postsynaptic mechanisms, as the

locomotor drive potential (LDP), seem to be responsible for most of the phase-dependent modulation of the MSR. In brief, because of its particular massive connectivity, the MSR pathway may not take full advantage of specific PAD patterns.

Another possible role for the widely distributed PAD patterns in group I afferents could be to decrease the variability of MSR (see Fig.7B). Indeed, Rudomin and co-workers (Rudomin and Dutton, 1969a,b) provided evidence that presynaptic modulation of group IA synaptic transmission was an important source of excitability fluctuation during the MSR (see also Gossard et al., 1994b). Conditioning inputs from peripheral nerves, producing a wide variety of PAD patterns as observed here, could decrease considerably the MSR variability by reducing the correlation of excitability fluctuations between motoneurons (Rudomin and Madrid, 1972).

### ***Functional considerations***

The possible role of presynaptic inhibition in the sensory control of motor tasks have been discussed before in several species (Rudomin et al. 1998; Clarac et al., 1992; Wolf and Burrows, 1995; Nusbaum et al., 1996; El Manira et al., 1998). As for locomotion in mammals, it is difficult to infer what PAD patterns would result from the combined sensory feedback of cutaneous, joint, muscle and other afferents activated by the stepping movements. Our results suggest that different stimulated afferents would evoke different PAD patterns (see Fig. 6). It is almost technically impossible to record PADs during real

walking but previous studies succeeded to record antidromic discharges in dorsal rootlets during treadmill locomotion of decerebrate cats (Beloozerova and Rossignol, 1994, 1995). It was reported that bursts of antidromic discharges could start or end in different phases of the step cycle suggesting that the underlying PADs may reach maximal amplitude at different moments of the step cycle, as described in this study.

Finally, the complex organization of PAD interneurons as proposed above may also allow a very precise and subtle control of synaptic transmission in highly focalized regions of the spinal cord. As suggested before (Equibar et al., 1994, 1997; Quevedo et al., 1997; Rudomin et al., 1998), specific branches of the same muscle afferent could be controlled independently depending on the task. For example, during a voluntary extension of the ankle in humans, quadriceps afferent terminals show different levels of presynaptic inhibition whether they end on motoneurons recruited for the task or not (Hultborn et al., 1987). One could easily extend this view to include spinal interneurons. For example, the terminals from one afferent ending on spinal interneurons of a segmental pathway and the terminals from the same afferent ending on an ascending pathway could be differentially controlled by specific subsets of PAD interneurons. We may thus further propose that the connectivity of PAD interneurons in the spinal cord could be organized, not according to the type of primary afferents, but rather, according to their post-synaptic targets.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

---

This work funded by a grant awarded to J.-P. Gossard from the Medical Research Council of Canada and from the Fonds pour la formation de chercheur et l'aide à la recherche (FCAR) du Québec. A. Ménard was supported by the Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC). H. Leblond was supported by the Rick Hansen MIM Foundation. The authors wish to thank Dr T. Drew for reviewing this manuscript.

## **REFERENCES**

---

Akazawa K, Aldridge JW, Steeves JD, Stein RB (1982) Modulation of stretch reflexes during locomotion in the mesencephalic cat. *J Physiol* 329:553-567.

Baev KV, Kostyuk PG (1982) Polarization of primary afferent terminals of lumbosacral cord elicited by the activity of spinal locomotor generator. *Neuroscience* 7(6):1401-1409.

Beloozerova IN, Rossignol S (1994) Antidromic activity of dorsal root filaments during treadmill locomotion in thalamic cats. *Soc Neurosci Abstr* 20: 1755.

Beloozerova IN, Rossignol S (1995) Antidromic activity in uncut dorsal roots of the cat. *Soc Neurosci Abstr* 21: 413.

Bévengut M, Clarac F, Cattaert D (1997) Antidromic modulation of a proprioceptor sensory discharge in crayfish. *J Neurophysiol* 78:1180-1183.

Burke RE (1987) Synaptic efficacy and the control of neuronal input-output relations. *TINS* 10: 42-45.



Burke RE, Fleshman JW, Segev I (1989) Factors that control the efficacy of group Ia synapses in alpha-motoneurons. *J. Physiol. (Paris)* 83: 133-140.

Cattaert D, El Manira A, Clarac F (1992) Direct evidence for presynaptic inhibitory mechanisms in crayfish sensory afferents. *J Neurophysiol* 67:610-624.

Clarac F, El Manira A, Cattaert D (1992) Presynaptic control as a mechanism of sensory-motor integration. *Current Opinion in Neurobiology* 2:764-769.

Conway BA, Hultborn H, Kiehn O (1987) Proprioceptive input resets central locomotor rhythm in the spinal cat. *Exp Brain Res* 68:643-656.

Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1988) Rhythmic fluctuations of dorsal root potentials and antidromic discharges of primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 60:2014-2036.

Duenas SH, Rudomin P (1988) Excitability changes of ankle extensor group Ia and Ib fibers during fictive locomotion in the cat. *Exp Brain Res* 70:15-25.

Duenas SH, Loeb GE, Marks WB (1990) Monosynaptic and dorsal root reflexes during locomotion in normal and thalamic cats. *J Neurophysiol* 63:1467-1476.

Eccles JC, Eccles RM, Magni F (1961) Central inhibitory actions attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys. *J Physiol* 159:147-166.

Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I, Rudomin P (1994) Selective cortical control of information flow through different intraspinal collaterals of the same muscle afferent fiber. *Brain Res* 643:328-333.

Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I, Rudomin P (1997) Selective cortical and segmental control of primary afferent depolarization of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 113:411-430.

El Manira A, DiCaprio RA, Cattaert D, Clarac F (1991) Monosynaptic interjoint reflexes and their central modulation during fictive locomotion in crayfish. *Eur J Neurosci* 3:1219-1231.

El Manira A, Tegnér J, Grillner S (1997) Locomotor-related presynaptic modulation of primary afferents in the lamprey. *Eur J Neurosci* 9: 696-705.

El Manira A, Parker D, Krieger P, Wikström M, Grillner S (1998) Presynaptic inhibition of synaptic transmission from sensory, interneuronal, and supraspinal neurons to spinal target cells in lamprey. In: Presynaptic inhibition and neural control (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds), pp.329-348. New York, Oxford University Press.

Enriquez M, Jiménez I, Rudomin P (1996) Segmental and supraspinal control of synaptic effectiveness of functionally identified muscle afferents in the cat. *Exp Brain Res* 107:391-404.

Gosgnach S, Quevedo J, Fedirchuk B, McCrea D (1998) Tonic presynaptic reduction of monosynaptic IA EPSPs during fictive locomotion. *Proc NY Acad Sci Abstr*: In press.

Gossard J-P (1996) The control of transmission in muscle group IA afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 76:4104-4112.

Gossard J-P, Brownstone RM, Barajon I, Hultborn H (1994a) Transmission in a locomotor-related group Ib pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. *Exp Brain Res* 98:213-228.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1989) Intra-axonal recordings of cutaneous

primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 62:1177-1187.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of primary afferent depolarization in single cutaneous primary afferents evoked by peripheral stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:14-23.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1991) An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 65:914-926.

Gossard J-P, Floeter M-K, Chang T, Kawai Y, Schiff SJ, Burke RE (1994b) Fluctuations of excitability in the monosynaptic reflex pathway to lumbar motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 72:1227-1239.

Gossard J-P, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of dorsal root potentials evoked by peripheral nerve stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:1-13.

Grillner S (1981) Control of locomotion in bipeds, tetrapods and fish. In: *Handbook of physiology, The nervous system II* (Brookhart JM, Mountcastle VB eds), pp 1179-1236. Maryland: Amer Physiol Soc.

Hiebert GW, Whelan PJ, Prochazka A, Pearson KG (1996) Contribution of hindlimb flexor muscle afferents to the timing of phase transitions in the cat step cycle. *J Neurophysiol* 75:1126-1137.

Hultborn H, Meunier S, Pierrot-Deseilligny E, Shindo M (1987) Changes in presynaptic inhibition of Ia fibres at the onset of voluntary contraction in man. *J Physiol* 389:757-772.

Ito F (1968) Recovery curves of thresholds of muscle spindle, leaf-like and tendon receptors in the frog sartorius muscle after an antidromic discharge. *Jpn J Physiol* 18:731-745.

Lindblom UF (1958) Excitability and functional organization within a peripheral tactile unit. *Acta Physiol Scand* 44 Suppl 153:1-84.

Loewenstein WR (1959) The generation of electric activity in a nerve ending. *Ann NY Acad Sci* 81:367-387.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967a) The effect of DOPA on the spinal cord. V. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha motoneurons of flexors and extensors. *Acta Physiol Scand* 70:369-388.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967b) The effect of DOPA on the spinal cord. VI. Half-centre organization of interneurons transmitting effects from the flexors reflex afferents. *Acta Physiol Scand* 70:389-403.

Jordan LM (1983) Factors determining motoneuron rhythmicity during fictive locomotion. *Soc Exp Biol Symp* 37:423-444.

McCrea DA, Shefchyk SJ, Stephens MJ, Pearson KG (1995) Disynaptic group I excitation of synergist ankle extensor motoneurons during fictive locomotion in the cat. *J Physiol* 487:527-539.

Ménard A, Leblond H, Gossard J-P (1997) Modulation of primary afferent depolarization in muscle group I fibres during fictive locomotion in the cat. *Soc Neurosci Abstr* 23:761.

Mendell LM, Henneman E (1971) Terminals of Ia fibers: Location, density and distribution within a pool of 300 homonymous motoneurons. *J Neurophysiol* 34:171-187.

Nicoll RA, Alger BE (1979) Presynaptic inhibition: transmitter and ionic mechanisms. *Int Rev Neurobiol* 21:217-258.

Nusbaum MP, El Manira A, Gossard J-P, Rossignol S (1997) Presynaptic mechanisms during rhythmic activity in vertebrates and invertebrates. In: *Neurons, networks, and motor behavior* (Stein PSG, Grillner S, Selverston AI, Stuart DG, eds), pp 237-253. Cambridge, MA: MIT Press.

Pearson KG, Duysens J (1976) Function of segmental reflexes in the control of stepping in cockroaches and cats. In: *Neural control of locomotion* (Herman RM, Grillner S, Stein S, Stuart DC, eds), pp529-537. New York: Plenum Press.

Quevedo J, Equibar JR, Lomeli J, Rudomin P (1997) Patterns of connectivity of spinal interneurons with single muscle afferents. *Exp Brain Res* 115:387-402.

Rossignol S (1996) Neural control of stereotypic limb movements. In: *Handbook of physiology, Exercise: Regulation and integration of multiple systems*, sect.12, pp 173-216. Bethesda MD: Am Physiol Soc.

Rudomin P (1990) Presynaptic inhibition of muscle spindle and tendon organ afferents in the mammalian spinal cord. *TINS* 13:499-505.

Rudomin P, Dutton H (1969a) Effects of conditioning afferent volleys on variability of

monosynaptic responses of extensor motoneurons. *J Neurophysiol* 32:140-157.

Rudomin P, Dutton H (1969b) Effects of muscle and cutaneous afferent nerve volleys on excitability fluctuations on Ia terminals. *J Neurophysiol* 32:158-169.

Rudomin P, Jiménez I, Quevedo J (1998) Selectivity of the presynaptic control of synaptic effectiveness of group I afferents in the mammalian spinal cord. In: *Presynaptic inhibition and neural control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds), pp.282-302. New York, Oxford University Press.

Rudomin P, Madrid J (1972) Changes in correlation between monosynaptic responses of single motoneurons and in information transmission produced by conditioning volleys to cutaneous nerves. *J Neurophysiol* 35:44-64.

Rudomin P, Solodkin M, Jiminez I (1987) Synaptic potentials of primary afferent fibers and motoneurons evoked by single intermediate nucleus interneurons in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 57:1288-1313.

Shefchyk SJ, Stein RB, Jordan LM (1984) Synaptic transmission from muscle afferents during fictive locomotion in the mesencephalic cat. *J Neurophysiol* 51:986-997.



Schmidt RF (1971) Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. *Ergebn Physiol* 63:20-101.

Shik ML, Severin FV, Orlovsky GN (1966) Control of walking and running by means of electrical stimulation of mid-brain. *Biofizika* 11:659-666.

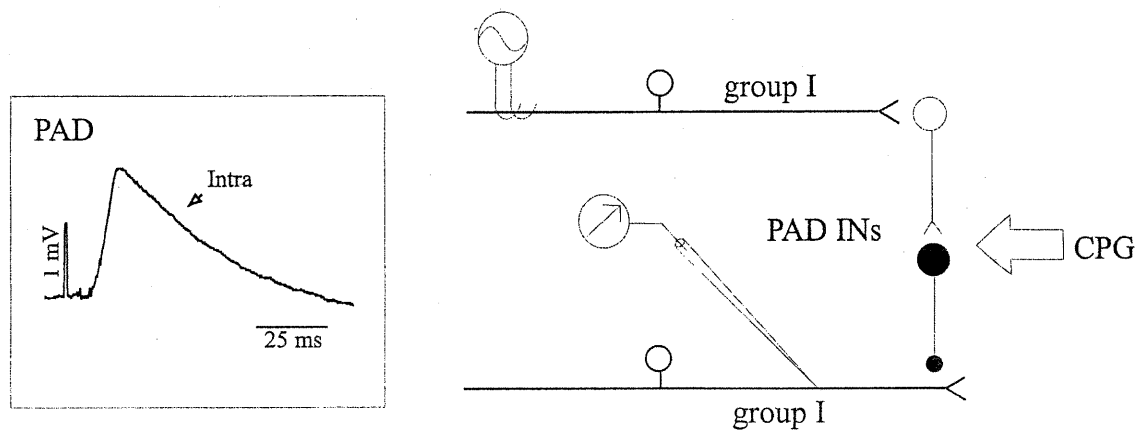
Schomburg ED, Behrends HB (1978) The possibility of phase-dependent monosynaptic and polysynaptic Ia excitation to homonymous motoneurons during fictive locomotion. *Brain Res* 143:533-537.

Stein RB, Capaday C (1988) The modulation of human reflexes during functional motor tasks. *TINS* 11:328-332.

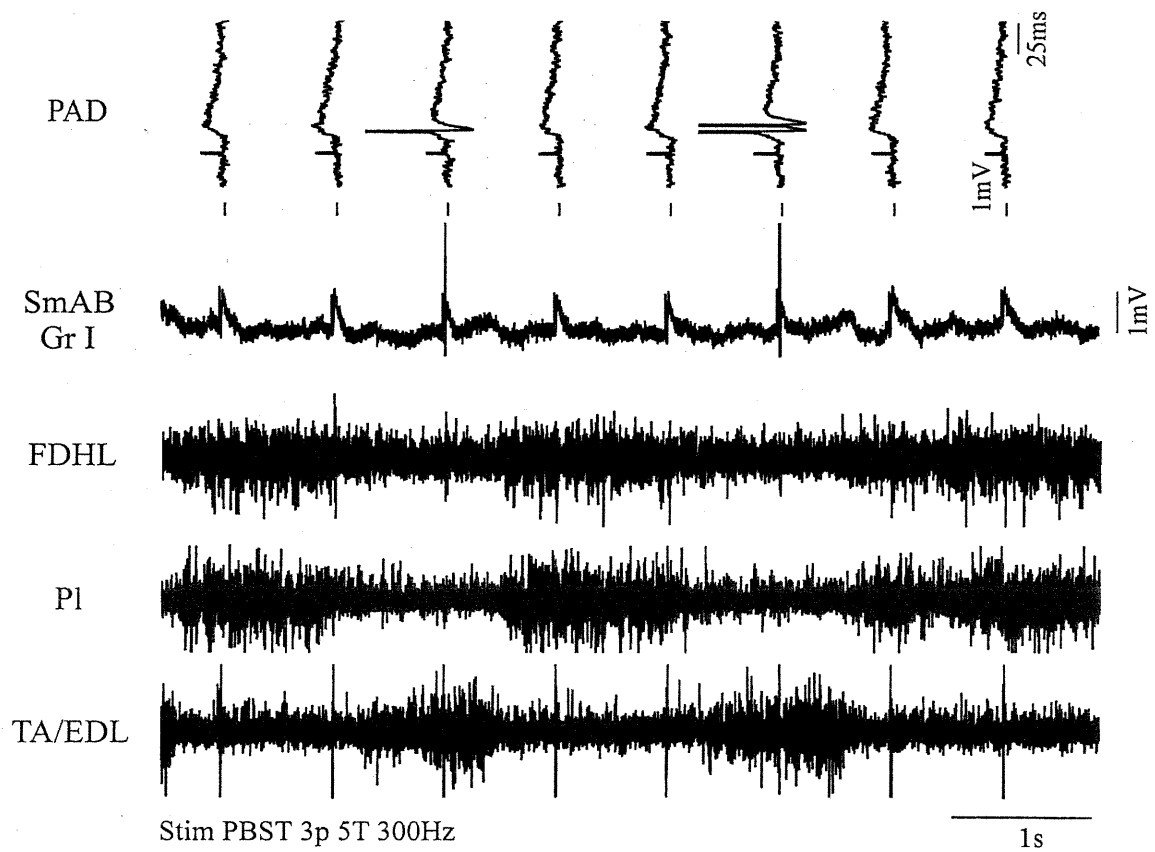
Toennies JF (1939) Conditioning of afferent impulses by reflex discharges over the dorsal roots. *J Neurophysiol* 2:515-525.

Wolf H, Burrows M (1995) Proprioceptive sensory neurons of a locust leg receive rhythmic presynaptic inhibition during walking. *J Neurosci* 15:5623-5636.

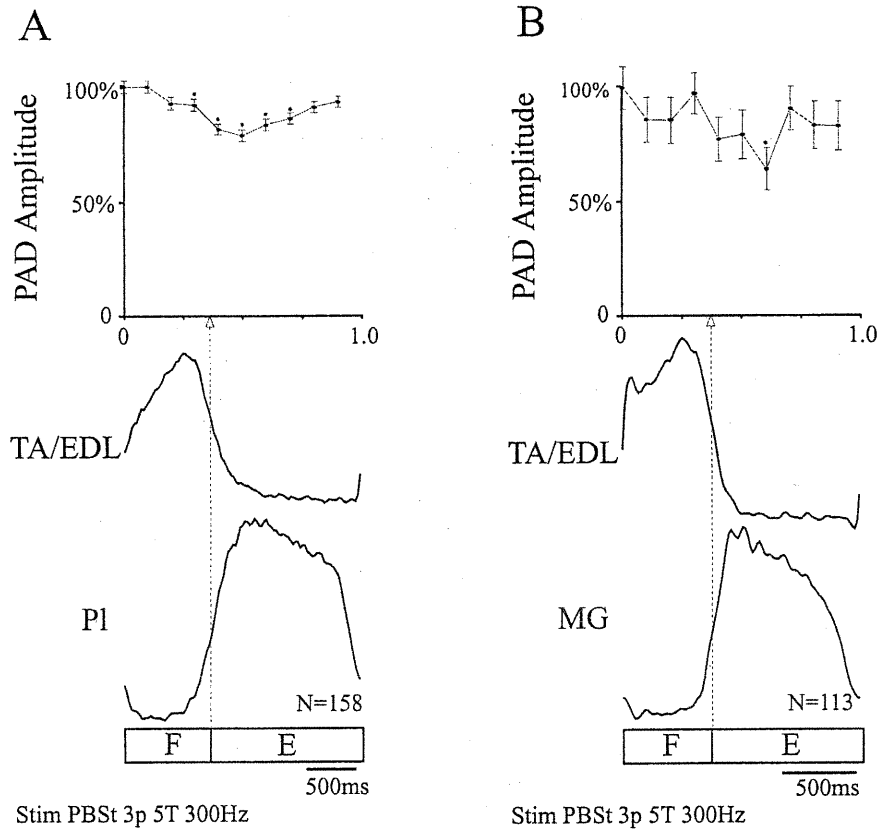
Yang JF, Whelan PJ (1993) Neural mechanisms that contribute to cyclical modulation of the soleus H-reflex in walking in humans. *Exp Brain Res* 95:547-556.



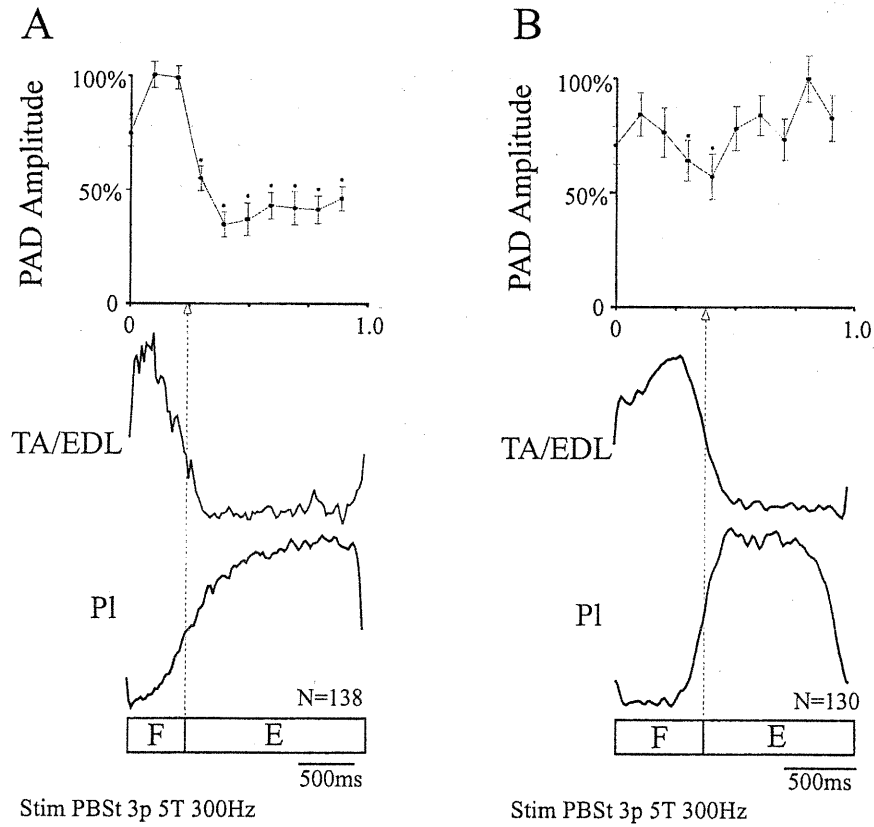
**Figure 1** *Experimental set-up and recordings.* Schematic representation of the spinal cord pathways under study. A stimulated muscle afferent contacts a short chain of 2 interneurons (PAD INs) responsible for primary afferent depolarisation (PAD). The PAD is mediated by an axo-axonic synapse located at the terminal of a muscle afferent recorded with a micropipette. This pathway is stimulated while the central pattern generator (CPG) for locomotion is activated. Inset: Averaged PAD recorded intra-axonally in a FDHL group I fibre (Intra, black trace) evoked by a stimulation of PBSt (5T 3p 300Hz) superimposed on the extra-cellular potential (Extra, gray trace) evoked by the same stimulation.



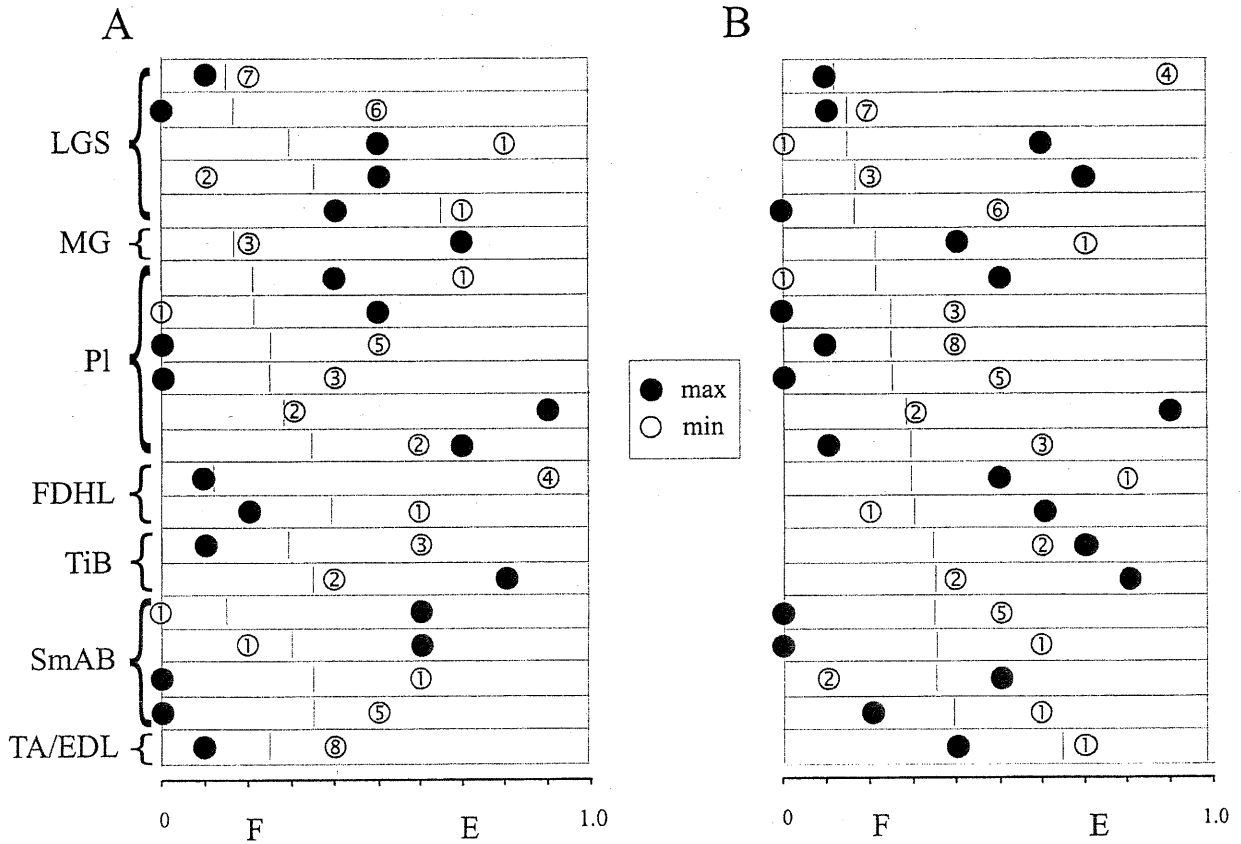
**Figure 2** *Intra-axonal recording of PADs during fictive locomotion.* Traces from top to bottom: Eight PADs (tilted 90°) recorded in a group I fibre from SmAB and evoked by PBST stimulation (3 p, 5T, 300HZ), continuous intra-axonal recording from the afferent, locomotor ENG activities of FDHL, PI and TA/EDL.



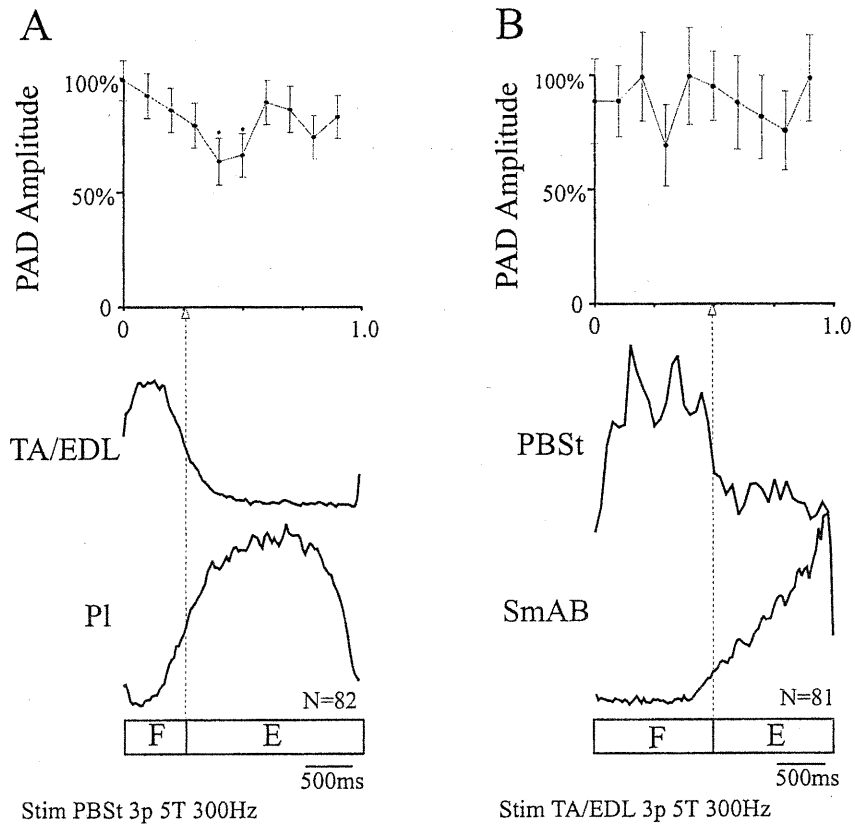
**Figure 3** Patterns of modulation of PAD amplitude in two SmAB group I fibres recorded in a spinal cat (A) and before (B) spinalization. From top to bottom: phase plots of the averaged amplitude of PADs (with standard error of the mean, SEM) as percentage of the maximal response and bins significantly different from other bins are represented by asterisks ( $p < 0.05 = *$ ); averaged and rectified ENGs activities representing the flexor (F) and the extensor (E) phases of the fictive step cycle (separated by a dotted line) which are also represented by boxes F and E at the bottom. N: Number of averaged locomotor cycles.



**Figure 4** Patterns of modulation of PAD amplitude in a TA/EDL (A) and a Tib (B) group I fibres recorded during spontaneous fictive locomotion in one decerebrate cat. Same outline as in Fig.3.

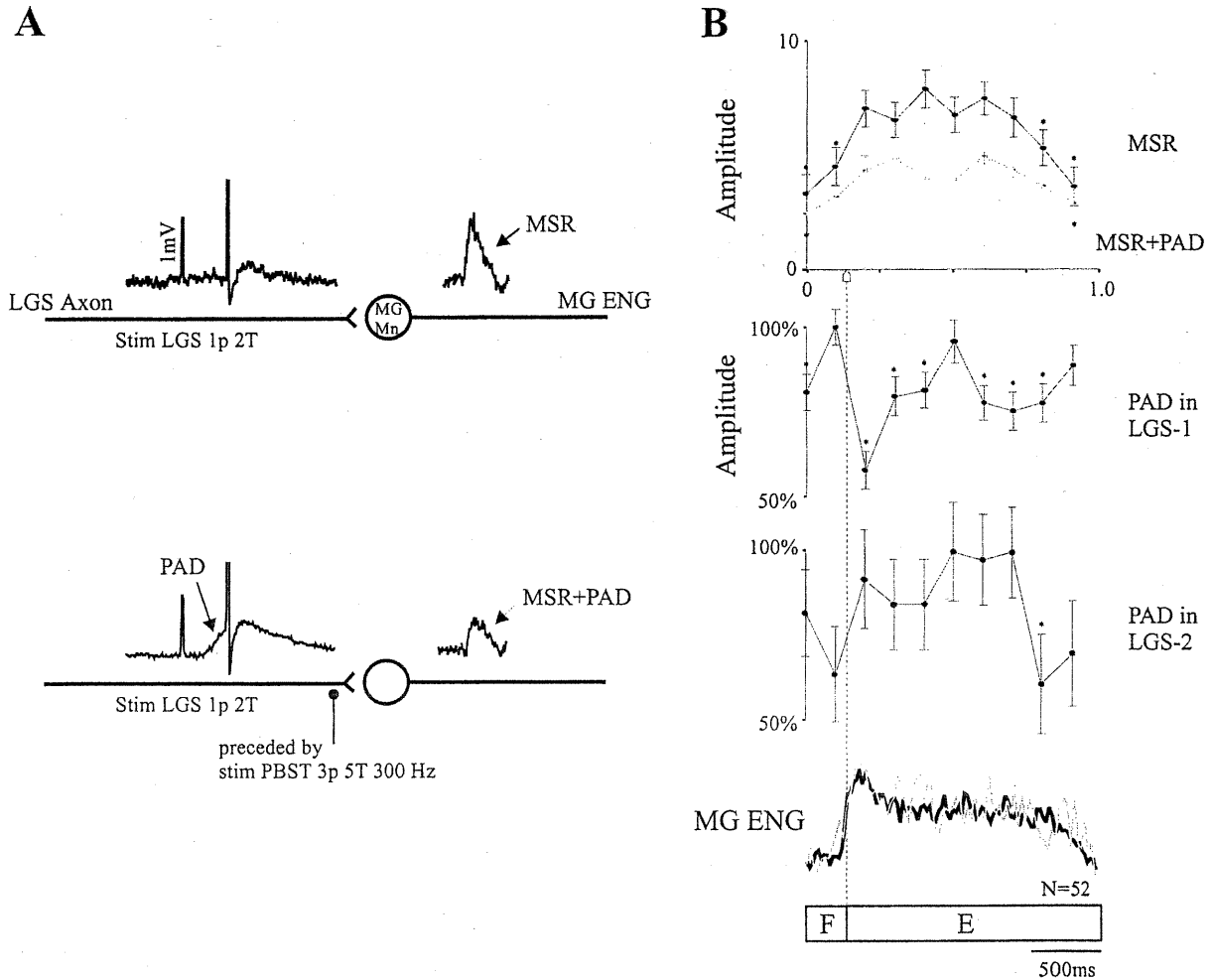


**Figure 5** Phase plots of maximal and minimal PAD amplitude. PADs in all illustrated trials were evoked by stimulation of the same nerve, PBSt. **A:** Trials are grouped according to the muscle of origin as indicated on the left. Maximal and minimal amplitude of PADs are represented by filled and empty circles respectively. The number written in opened circles are the number of bins significantly modulated. For each axon, the locomotor cycle is represented by a box with the flexor and extensor phases separated by a short vertical line. **B:** Trials are grouped according to the proportion of the flexor phase within the fictive step cycle, increasing from top to bottom.



**Figure 6** Patterns of modulation of PAD amplitude produced by different sources of PAD in the same PI group I fibre recorded during fictive locomotion induced by nialamide and L-DOPA in a spinal cat. Same outline as in Fig.3.





**Figure 7** Effect of PAD on MSR amplitude during fictive locomotion. **A:** From top to bottom: Schematic representation of the pathways involved. Stimulation of the LGS nerve (1p, 2T) evoked an action potential in the LGS fibre contacting the MG motoneurone (MG Mn) and induced a heteronymous MSR measured from the rectified MG ENG. Stimulation of the LGS nerve (1p, 2T) was then preceded by the stimulation of PBSt (3p, 300Hz, 5T) which evoked an action potential on the top of a PAD in the LGS fibre and induced a reduced MSR. **B:** From top to bottom: phase plot of the averaged amplitude of MSRs obtained with (gray) and without PAD (black); phase plots of the averaged amplitude of PADs recorded in two LGS group I fibres; superimposed rectified MG locomotor ENG activities recorded in both conditions, with (gray), and without, PAD (black).

## **ARTICLE # 2**

### **Sensory integration in presynaptic inhibitory pathways during fictive locomotion in the cat**

par

Ariane Ménard, Hugues Leblond and Jean-Pierre Gossard

The Journal of Neurophysiology 2001 (soumis)

## **ABSTRACT**

---

The aim of this study is to understand how sensory inputs of different modalities are integrated into spinal cord pathways controlling presynaptic inhibition during locomotion. Primary afferent depolarization (PAD), an estimate of presynaptic inhibition, was recorded intra-axonally in group I afferents (n=31) from seven hindlimb muscles in L6-S1 segments during fictive locomotion in the decerebrate cat. PADs were evoked by stimulating alternatively low-threshold afferents from a flexor nerve, a cutaneous nerve and a combination of both. The fictive step cycle was divided in 5 bins and PADs were averaged in each bin and their amplitude compared. PADs evoked by muscle stimuli alone showed a significant phase-dependent modulation in 20/31 group I afferents. In 12/20 afferents, the cutaneous stimuli alone evoked a phase-dependent modulation of primary afferent hyperpolarization (PAH, n=9) or of PADs (n=3). Combining the two sensory modalities showed that cutaneous volleys could significantly modify the amplitude of PADs evoked by muscle stimuli in at least one part (bin) of the step cycle in 17/31 (55%) of group I afferents. The most common effect (13/17) was a decrease in the PAD amplitude by 35 % on average while it was increased by 17% on average in the others (4/17). Moreover, in 8/13 afferents, the PAD reduction was obtained in 4/5 bins i.e. for most of the duration of the step cycle. These effects were seen in group I afferents from all 7 muscles. On the other hand, we found that different cutaneous nerves had quite different efficacy; the superficial peroneal (SP) being the most efficient (85% of trials) followed by Saphenous (60%) and caudal sural (44%) nerves. The results indicate that there is a CPG-dependent modulation in the excitability of PAD pathways activated by muscle afferents and a tonic modulation of excitability in cutaneous interneurons impinging on them. We conclude that cutaneous input, especially from the skin area on the dorsum of the paw (SP), could

subtract presynaptic inhibition in some group I afferents during perturbations of stepping (e.g. hitting an obstacle) and could thus adjust the influence of proprioceptive feedback onto motoneuronal excitability.

## **INTRODUCTION**

---

Sensory feedback can adapt the timing and magnitude of the motor activities of stepping to the physical constraints of the environment (cf. Rossignol 1996). Presynaptic inhibition of primary afferent terminals may be the initial mechanism allowing the selection of relevant sensory information in the adaptation of stepping movements in several species (cf. Nusbaum et al. 1997). Presynaptic inhibition is known to be induced by GABAergic spinal interneurons that depolarize primary afferent (PAD) terminals and to decrease transmitter release (Eccles et al. 1961; Schmidt 1971; Nicoll and Alger 1979; Rudomin and Schmidt 1999). There is also cumulating evidence for an important role of proprioceptive feedback in humans (Dietz et al. 1985; Stephens and Yang 1998; Sinkjaer et al. 1996, 2000) and for presynaptic inhibition of IAs in the control of walking patterns (Morin et al. 1984; Stein and Capaday 1988; Yang and Whelan 1993; Faist et al. 1996; Simonsen and Dyhre-Poulsen 1999).

Sensory inputs are particularly potent in activating the interneurons of the PAD pathways. When various muscle and cutaneous afferents activate PAD interneurons projecting to terminals of afferents of their own sensory modality, presynaptic inhibition could constitute a negative feedback suppressing trivial inputs (Schmidt, 1971). However, the giving and the receiving primary afferents can also feature different modalities. Indeed, PAD interneurons can receive inputs from multiple peripheral sources which may be excitatory or inhibitory (Schmidt 1971, Rudomin and Schmidt 1999). A convergence of multimodal sensory inputs could be an efficient way to modulate presynaptic inhibition. It is thus important to learn more about the interaction between different sensory afferent

systems on PAD pathways.

Of particular interest to us are: 1) the convergence of inputs from cutaneous and muscle afferents of large diameter because they are the first to reach spinal cord networks and 2) the regulation of transmission in muscle group I afferents which synaptic action is of prime importance for the adjustment of motoneuronal excitability and stepping patterns. However, only very limited information is available on how presynaptic inhibition is regulated by sensory interaction. In the anaesthetized cat (Enriquez et al. 1996), of the 12 group IA fibres studied, stimulation of cutaneous sural afferents decreased the PAD evoked by stimulating a hip flexor nerve (PBSt) in 11 afferents and increased it in one. Among the 13 group IB fibres tested, sural conditioning stimuli decreased the PAD evoked by PBSt in 8 and increased it in 5. Another investigation on the soleus H reflex in humans reported that activation of the low threshold receptors of the skin of the distal foot reduced presynaptic inhibition of soleus IA afferents and even more efficiently during plantar flexion (Iles 1996).

Sensory integration in spinal cord pathways is best described in anaesthetized cats but its operation during locomotion, or any other movements, remains obscure. We know that transmission in PAD pathways activated by sensory inputs (Gossard and Rossignol 1990; Gossard et al. 1991; Rossignol et al. 1997; Nusbaum et al. 1997) or supraspinal inputs (Leblond et al. 1999) is modulated by the central pattern generator (CPG) for locomotion and by the CPG for scratching (Côté et al. 2000). Our previous work (Ménard et al. 1999) showed that the amplitude of PAD in muscle group I afferents, evoked by muscle nerve stimulation, is modulated in a phase-dependent manner during fictive

locomotion. Based on these observations, the present study thus focuses on the more complex problem of sensory interaction in PAD pathways during fictive locomotion and whether this interaction changes with different cutaneous nerves. Some of these results have been previously reported in abstract form (Ménard et al. 1998).

## **MATERIALS AND METHODS**

---

### ***Surgical procedures***

Thirty-four adult cats of either sexes (2.5-4.5kg) were used for these experiments which were conducted in compliance with the Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canada) and the Ethics Committee of Université de Montréal. Details of the preparation can be found in a previous publication (Ménard et al. 1999). In brief, the animals were anaesthetized with a mixture of halothane (2-3%) oxygen (50%) and nitrous oxide (50%) during the time of the surgery which included insertion of cannulae for monitoring blood pressure or for administration of fluids, nerve dissection, lumbar laminectomy (L4-L7) and craniotomy. Cats were then decerebrated with a transection at the precollicular postmammillary level and removal of all rostral brain tissue (Ménard et al. 1999; Leblond et al. 2000).

The following muscle and cutaneous nerves from the left hindlimb were dissected: posterior biceps-semitendinosus (PBSt), semimembranosus-anterior biceps (SmAB), lateral gastrocnemius-soleus (LGS), medial gastrocnemius (MG), plantaris (PI), flexor digitorum longus and flexor hallucis longus together (FDHL), tibialis anterior (TA), extensor digitorum longus (EDL), superficial peroneus (SP), caudal cutaneous sural (CCS), saphenous (Saph). All these nerves were dissected free but not cut except for PBSt, SmAB and CCS. The nerve Saph was mounted in a polymer cuff electrode.



After decerebration, anaesthesia was discontinued and the cats were paralysed with Pavulon (Pancuronium bromide; 0.2mg/kg supplemented every 45 min) and artificially ventilated (pCO<sub>2</sub> maintained around 4%). Pools filled with warm mineral oil were constructed around the spinal cord and around hindlimb nerves which were mounted on bipolar electrodes for recording (electroneurogram, ENG) and stimulation. Fictive locomotion was either occurring spontaneously following decerebration (n=20), evoked by the stimulation of mesencephalic locomotor region (n=5), or induced by injection of nialamide (50 mg/kg) and L-DOPA (150 mg/kg) in decerebrate/spinal cats at T13 (n=9) (Jankowska et al. 1967 a,b).

### ***Recording and stimulation***

Stimulus intensity was expressed as a multiple of the threshold (T) for the most excitable fibres in the nerve which is the stimulus strength required to just evoke a deflection in the cord dorsum potential (CDP). Figure 1 is a schematic illustration of the neuronal circuitry investigated in this study. Stimulation of a peripheral muscle nerve (usually PBSt) with standard train (three pulses (p) at 300Hz, 2-5T) was used to activate PAD interneurons contacting terminals of the recorded muscle group I afferent. PADs evoked by muscle stimuli alone will be designated as just "PAD" in the rest of this text. Intra-axonal recordings of PADs were performed with glass micropipettes (10-25 M $\Omega$ ) filled with K<sup>+</sup> acetate (3M) and inserted into the dorsal columns. Only axons with at least 40mV spike, a membrane potential more negative than -40mV and a stable DC signal were accepted for study. Axons were identified as group I muscle afferents according to specific

physiological criteria (Ménard et al. 1999; Gossard 1996). When possible, group IA and IB fibres were identified by their distinct firing responses to a twitch contraction evoked by a direct electrical stimulation in different loci in the (curarized) muscle belly (Matthews 1972). A clear pause in the firing rate of the axon suggests that it is a IA fibre while a sudden increase in firing rate suggests that it is a IB fibre. In order to investigate the interaction between muscle and cutaneous afferent inputs (question mark in Fig. 1), we compared the PAD amplitude before, and when preceded by, stimulation of cutaneous afferents (CCS, SP and Saph) given at 2T (1-3p, 300Hz). Because the maximal effect produced by PAD interneurons occurs around 20 ms (Eccles et al. 1962, 1963), the cutaneous stimulus preceded the muscle stimulus by such an interval. Similar stimulation protocols have been frequently used in previous work on PAD pathways (e.g. Lund et al. 1965; Willis et al. 1976; Rudomin et al. 1983, 1986; Jiménez et al. 1988; Enriquez et al. 1996) also because it excludes from the PAD measurement the important extracellular field potential evoked by some cutaneous nerves (see Fig. 3A). All the stimuli were delivered alternatively allowing the comparison within the same locomotor episode. More specifically, the muscle stimulus alone was succeeded by the combined cutaneous and muscle stimuli and, once every other, by the cutaneous stimulus alone (Fig. 2).

### ***Data collection and analysis***

Data suited for analysis were digitized and analysed with interactive custom-made software (Spinal Cord Research Centre, University of Manitoba, Winnipeg, Canada). The fictive step cycle, defined as two successive bursts of ENG activity in flexors, was normalized and divided into 5 equal portions or "bins". Responses to the different stimuli

occurring in similar bins were respectively averaged together (cf. Fig. 3A). The retained runs had averages of at least 10 responses per bin in a majority of bins. Phase plots of the integrated amplitude of the averaged responses were constructed (cf. Ménard et al. 1999). The amplitude of PADs, of PADs preceded by cutaneous input and cutaneous responses (PAD or primary afferent hyperpolarization, PAH), were plotted in the same phase plot as separate curves (e.g. Fig. 3B). Averaged rectified ENG activities of a flexor and an extensor nerve were aligned with the plot in order to identify the different phases of the fictive step cycle (e.g. Fig. 3B) which were also simply illustrated as F and E boxes for clarity in the following figures (Fig. 4, 5, 8).

At first, we performed the Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors statistical test and it confirmed that some values were nonparametric. Subsequently, the Mann-Whitney U test was used to compare in each bin the amplitude of PADs evoked by muscle stimuli alone to PADs preceded by the cutaneous input. A significant ( $p < 0.05$ ) difference in PAD amplitude is indicated by a star in phase plots and by an arrowhead in the results illustrated in Fig. 6. In Fig. 6, a downward (empty) arrowhead indicates a reduction of PAD amplitude by the cutaneous input while an upward (in black) arrowhead indicates an increase in PAD amplitude. In order to determine if there was a significant phase-dependent modulation in PAD amplitude, the same statistical tests were used to compare the largest PAD amplitude with values of every other bin. When a significant difference was found, the bin with the maximal PAD amplitude was represented in the results in Fig. 6 by an empty circle and by a black dot when preceded by a cutaneous volley. The same analysis was done for the modulation of PAD or PAHs evoked by cutaneous stimulation. The maximum response is simply circled in the phase plots.

## **RESULTS**

---

PADs were recorded in a total of 86 muscle afferents. Because of the variability in PAD responses and fictive stepping patterns, only the best sequences of recordings were kept for analysis which included extensive statistical tests. Adequate stimulated sequences of PADs were retained from 31 muscle group I afferents from 7 muscles (6LGS, 5PI, 9FDHL, 5TA, 2EDL, 2PBSt, 2SmAB) recorded during fictive stepping occurring spontaneously (n=8), induced by MLR stimulation (n=2) or following L-DOPA injection in spinal cats (n=3). No detectable differences were found between these distinct preparations although this may be due to the limited number of cats in each category. Figure 2 gives an example of the recorded signals obtained during an episode of spontaneous fictive locomotion which can be seen as alternating ENG activities in an extensor (SmAB) and a flexor (TA) nerve. It also shows the intra-axonal recording of a group I afferent from SmAB in which responses were evoked by the interleaved stimuli falling at random times along the fictive step cycle. The resulting axonal responses are presented with a shorter time scale as traces titled 90° above the intra-axonal signal. The PADs (arrow) produced in response to PBSt nerve stimulation (3p 2T 300Hz) are traces in black while responses to the stimulation of cutaneous nerve SP (1p 2T) alone are traces in light grey and responses to the combined stimuli are traces in dark grey.

Figure 3 shows a representative example of the most common effect produced by cutaneous input on PADs during the different phases of the fictive step cycle. Traces in Fig. 3A are responses from a plantaris group I afferent averaged for each of the 5 bins of the step cycle. Traces in black are axonal responses evoked by PBSt (3p 2T 300Hz)

stimuli, traces in dark grey, responses evoked by muscle stimuli preceded by a SP stimulus (1p 2T) and traces in light grey, responses to the SP stimuli alone. For each bin, the three traces are superimposed. It is quite obvious that the SP stimulus decreased the amplitude of PADs (in dark grey) as compared to controls (in black) in each of the 5 bins. Note that the SP volley evoked an important negative potential field (trough) at the beginning of the axonal recording (cf. Lund et al. 1965; Mendel 1972) but, because it preceded the PAD by 20 ms, this field was completely excluded from the measurement of the PAD amplitude. The integrated amplitude was measured for each of the evoked PAD, averaged for each bin and compared in a phase plot (see Methods) as three different curves (with the corresponding colour) as shown in Fig. 3B. From these curves, we can follow the changes in PAD (or PAH) amplitude over the normalized cycle which begins with the onset of the flexor phase as depicted by the averaged ENG activity in TA nerve under the graph. Firstly, it is clear that the amplitude of PADs (upper curve in black) was modulated over the step cycle (cf. Ménard et al. 1999). It reached a maximum at the beginning of the flexor phase (circle) and decreased (2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> bins) during most of the extensor phase (represented by the ENG activity in MG). Secondly, the amplitude of the SP-conditioned PADs (curve in dark grey) was clearly decreased as compared to PADs as evidenced by the position of this curve under the control one (in black). A significant decrease in PAD amplitude is indicated by a star in all 5 bins. Note that the moment (bin) for maximal PAD amplitude (circles in 1<sup>st</sup> bin) was not modified by the additional cutaneous input. Because the cutaneous-related reduction in PAD is more or less constant throughout the cycle, the patterns of phase-dependent modulation are quite similar in both cases. Thirdly, the bottom curve in light grey shows that cutaneous stimuli alone evoked PAHs (Mendel 1972; Rudomin et al. 1974) in the first 2 bins with a maximum amplitude (circle) occurring in the second. The same cutaneous stimuli were able to evoke large dorsal root potentials (DRP; Schmidt 1971; Gossard et al. 1990; Gossard and

Rossignol 1990) in a L6 dorsal rootlet (not shown) and thus, was able to evoke PADs in other types of afferents. However, in this PI group I fibre, the SP stimulus removed a amount of PAD at the beginning of the step cycle. Note that the patterns of CPG-dependent modulation of PAD (in black) amplitude and of PAH amplitude (in light grey) are quite different. Note also that, even though PAHs are evoked only in the first 2 bins, that the cutaneous stimuli decreased PAD amplitude significantly in all 5 bins.

When possible (see Methods), group I afferents were further characterized as IA (n=8) or IB (n=4) fibres. In figure 4, we compare the action of SP input in a IA and a IB fibres from the same muscle (LGS) during fictive locomotion. The patterns of phase-dependent modulation in PAD amplitude (evoked by PBSt, 3p 2T 300 Hz) are quite similar for both fibres (curves in black) with a maximum occurring in the 1<sup>st</sup> bin (circles). Also, in both fibres, the amplitude of PADs was significantly reduced (curves in dark grey) by the SP stimulus (1p 2T). Even though there are slight differences in the magnitude of PAD reduction from bin to bin in the two fibres, the overall pattern is the same i.e. a significant decrease in PAD amplitude in all 5 bins (as indicated by stars) which was especially important during the extensor phase when it becomes close to zero. Also, the occurrence of maximal PAD amplitude remained in the 1<sup>st</sup> bin (circles). Note that the SP stimulus alone evoked small PAHs mostly during the first 2 bins in both fibres. Overall, cutaneous input decreased PAD amplitude in 4/8 IAs and in 3/4 IBs.

The analysis of all group I afferents pooled together revealed that cutaneous volleys could significantly modify the amplitude of PADs evoked by muscle stimuli in at least one part (bin) of the step cycle in 17/31 (55%) of group I afferents. The most common

effect (13/17) was a decrease in the PAD amplitude (by 35 % on average) while it was increased by 17% on average in the others (4/17). The analysis further indicated that PADs evoked by muscle stimuli showed a phase-dependent modulation of their amplitude in 20/31 (65%) muscle group I afferents, thus supporting the idea that the transmission in PAD pathways is phasically modulated by the CPG for locomotion (cf. Ménard et al. 1999). Also, in 12 of these 20 afferents, there was a significant phase-dependent modulation of PAH amplitude (n=9) or of PAD amplitude (n=3) in response to cutaneous volleys.

We further inquired whether different cutaneous nerves, innervating different skin areas of the hindlimb, produced specific interaction patterns with muscle input in PAD pathways. We thus combined the muscle stimuli with the stimulation of 2 to 3 different cutaneous nerves within the same axonal recording and succeeded to do so in 11 group I afferents. In Fig. 4A-B, we compare the effects of CCS and Saph stimulation on the PAD evoked by PBSt (3p 2T 300Hz) in a LGS group I afferent. The organization of phase plots is the same as in Fig. 3B. Firstly, there was a phase-dependent modulation of PAD amplitude with the minimum occurring in flexion (1<sup>st</sup> bin) and the maximum occurring in extension (circle). Secondly, both CCS (Fig. 4A) and Saph (Fig. 4B) stimulation significantly decreased the amplitude of PADs in all 5 bins (as indicated by the stars). The maximum PAD amplitude occurred in the same bin with CCS stimulus but moved towards the end of extension with Saph stimulus. Except for this small difference, the two cutaneous nerves had a similar effect i.e. a clear decrease in PAD amplitude in all 5 bins. Both CCS and Saph stimuli evoked PAHs in that axon but statistical analysis showed a significant phase-dependent modulation only with Saph stimulus with a maximum PAH amplitude occurring in the 3<sup>rd</sup> bin (circle). Again, note that the patterns of CPG-dependent modulation of PAD amplitude (in black) and of PAH amplitude (in light grey) were quite

different. Fig. 4C-D shows another comparison of cutaneous action on PADs recorded in a group I afferent from SmAB, a hip extensor. The amplitude of PADs evoked by PBSt (3p 2T 300 Hz) is phasically modulated along the fictive step cycle with a maximum occurring at the beginning of flexion (circle) which progressively decreased during extension (E). Both CCS (Fig. 4C) and SP (Fig.4D) stimuli induced a similar dramatic decrease in PAD amplitude in all 5 bins (stars) and did not change the moment for maximal PAD amplitude (circles). Note the different patterns in phase-dependent PAH modulation evoked by CCS and SP stimuli (curves in light grey).

Overall, cutaneous inputs alone were able to evoke axonal responses in 12/13 trials for SP (92%; 7/12 were PAHs), in 11/17 trials for CCS (65%; 6/11 were PAHs) and, in 8/10 trials for Saph (80%; 5/8 were PAHs). The same inputs could change significantly the PAD amplitude, in at least one bin, in 17/31 afferents (55%) of group I afferents (10 decerebrate cats and 3 spinal cats). In Fig.6 are grouped only the trials where cutaneous input did change PAD amplitude significantly (all evoked by PBSt stimuli). They are organized according to muscle of origin (abbreviated on the left) and according to the cutaneous nerve; CCS in A, SP in B and Saph in C. Each box in Fig. 6 represents the effect of a cutaneous volley on the amplitude of PAD during the normalized step cycle divided in 5 bins with the grey box representing flexion and the white one, extension. For each trial, a significant modification in PAD amplitude in a particular bin is indicated by an arrowhead (which corresponds to a star in phase plots). A downward (empty) arrowhead indicates a reduction of PAD amplitude by the cutaneous input (as in Fig. 3-5) while an upward (black) arrowhead indicates an increase in PAD amplitude. Firstly, as seen in Figs. 3-5, it is clear that, in the vast majority of trials (23/28), there are downward arrowheads indicating that the most common effect of cutaneous inputs was a decrease in PAD



amplitude. Secondly, this decrease is also observed for a majority of bins (4/5 bins) in most trials (16/28). However, detailed comparisons between the effects of the 3 cutaneous nerves indicate some subtle differences. The potency for modifying PAD amplitude was greater for SP (85% of trials) as compared to CCS (44%) or Saph (60%). Also, the number of bins being affected was larger for SP (4.4 bins) than for Saph (4.2) or CCS (3 bins).

Also illustrated in 22 trials of Fig.6, are the occurrence of the maximal PAD amplitude before (indicated by an empty circle) and following the conditioning cutaneous input (indicated by dots). For example, in most of these trials (15/22, 68%), there is a superimposition of the circle and the dot, signifying that the bin where the maximal PAD amplitude occurred was not changed by the cutaneous input. If one divides the step cycle into the two major phases of the step cycle, flexion and extension, instead of bins, then the results indicate that the cutaneous input could reverse the phase of maximal PAD amplitude in only 1 case (SP in a PI axon). Finally, in 2/6 trials without a CPG-dependent PAD modulation (no circles), the cutaneous input (CCS in a EDL axon and SP in a FDHL axon) was able to induce a significant phase-dependency. This is indicated by a dot designating the bin when the maximal PAD amplitude occurred.

## **DISCUSSION**

---

The present work looked at the integration of synaptic inputs from low threshold cutaneous afferents, muscle afferents and from the CPG for locomotion in presynaptic inhibitory pathways to muscle group I afferents. It was found that PAD amplitude during fictive stepping is critically influenced by the combination of different sensory feedback. We will first see how the results may be integrated into the known PAD interneuronal circuitry and secondly, how they could contribute to the sensory control of motoneuronal excitability during stepping.

Overall, cutaneous volleys could significantly modify the PAD evoked by muscle stimuli in at least one part (bin) of the step cycle in 17/31 (55%) group I afferents. Clearly, the most common effect (n=13/17) was a decrease in the PAD amplitude (by 35 % on average). Note that the absence of effects in 16 afferents was often due to the CCS stimulation which turned out to be less potent and modified a smaller number of bins than the SP or Saph nerves. However, the sural nerve was the most commonly used in PAD studies in the anaesthetized cat. In a previous study measuring the excitability of afferent terminals in response to supraspinal and/or peripheral inputs in the anaesthetized cat, the use of sural nerve stimulation was critical to classify group IA and IB fibres into three distinct types of PAD patterns (Rudomin et al.1986). However, more recent studies from the same group, using intra-axonal recordings of MG group IA and IB fibres, revealed important overlaps between IAs and IBs and they showed that the sural stimulation could either evoke or inhibit PAD with the latter being the most frequent in IAs. Our very limited sample (n=12) of identified IAs and IBs indicates that cutaneous volleys decreased the

PBSt-PAD in 4/8 IAs and in 3/4 IBs. Also, in the rest of our group I fibres, which must have included both IAs and IBs, an inhibition of PAD was the most frequent finding. Thus, we may tentatively conclude that cutaneous input would mostly decrease PAD in both IAs and IBs during stepping. Lund et al. (1965) reported that the monosynaptic EPSP in extensor motoneurons, which was presynaptically inhibited by PBSt stimuli, could regain its original size when preceded by the stimulation of the sural nerve. Such removal of presynaptic inhibition of IA-EPSP by cutaneous input is consistent with our findings. Also, we found that cutaneous input alone could evoke a phase-dependent modulation of PAH (n=9) or PADs (n=3) in group I afferents during fictive locomotion which has never been reported before (see below).

#### *Gating of PAD pathways during fictive locomotion*

Whether cutaneous responses were transmitted through PAD interneurons activated by PBSt or independently transmitted to axonal terminals is impossible to determine with certainty at this point. If the latter is true, one would expect linear summation (or subtraction) of axonal responses evoked by the two sensory inputs. However, in most cases, the pattern of phase-dependent modulation in PAHs (or PADs) evoked by cutaneous stimuli can not explain the overall (4/5 bins) reduction of PBSt-evoked PAD. This can be appreciated in all illustrated phase plots. For example, in Fig. 3B, the SP stimuli evoked small PAHs only in the first 2 bins of the cycle and no detectable responses in the last 3 bins and yet, when combined to PBSt stimuli, there was a significant reduction in PAD amplitude in all 5 bins. If both responses had been independently transmitted to the axonal terminals, one would have expected PAHs to

subtract some of the PAD amplitude only during the first 2 bins. Also, the magnitude of PAD reduction in a given bin appears to be much larger than the PAH amplitude evoked in that same bin (e.g. Figs. 3-5). Indeed, linear summation analysis (not shown) revealed that the amplitude of PAHs evoked by cutaneous stimuli was much smaller than the amplitude of PAD reduction evoked by the combined stimuli. However, we believe analysis based on linearity is difficult to interpret during fictive stepping because of the involvement of many non-linear intrinsic cellular properties (e.g. Hultborn and Kiehn 1992). Therefore, the previous observations are taken as clear indications (not evidence) that convergence of cutaneous and muscle inputs onto common PAD pathways is the best explanation for our results.

On the other hand, if PAH evoked by cutaneous stimuli was due to a direct inhibition of PAD interneurons activated by the PBSt stimuli, one could have expected both responses to follow a similar pattern of phase-dependent modulation (cf. Burke 1999). As mentioned before, this was clearly not the case and we believe that, when muscle (PBSt) afferents were not stimulated, the PAHs evoked by cutaneous stimuli alone were probably due to the inhibition of different PAD pathways which were driven by other segmental, descending and/or CPG inputs. In previous studies of PAD circuitry in the anaesthetized cat, cutaneous action is always described as being mediated through pathways activated by muscle and/or descending inputs (Rudomin et al. 1983, 1986). Predominance of cutaneous excitation over inhibition or vice versa would then depend on the nature of the descending and other segmental influences received by each set of PAD interneurons (Enriquez et al. 1996). Actually, PAHs were only observed in preparations with an important background excitability in spinal cord networks (Mendel 1972) which could explain the low incidence of PAH observed in anaesthetized cat (Rudomin et al.

1974). In a recent study (Gosgnach et al. 2000) a background level of PAD in group IA afferents (see Baev and Kostyuk 1982) has been proposed to explain a tonic decrease in monosynaptic EPSPs size during MLR-evoked fictive locomotion in the decerebrate cat. Moreover, previous studies clearly showed that fictive stepping is also accompanied by a phasic (CPG-related) PAD in many afferents (Dubuc et al. 1988; Gossard et al. 1989, 1991). We believe that, in the absence of muscle stimuli, the responses evoked by cutaneous input alone as seen in this study are best explained by changes in the activity of CPG-related PAD pathways.

Finally, we observed that cutaneous inputs decreased PAD amplitude for most of the duration of the step cycle (4/5 bins) in 8/13 afferents (57% of trials; 16/28) and did not change the moment (bin) of maximal PAD amplitude in them (68% of trials; 15/22). These observations suggest that a proportion of cutaneous inhibitory interneurons impinging onto PAD pathways is *tonically* active during fictive stepping. This, in turn, suggests that a cutaneous input triggered any time in the step cycle would be able to reduce efficiently the level of presynaptic inhibition in a number of group I afferents without changing the pattern of phase-dependent modulation. We also observed that the different cutaneous nerves had different potency to modify PAD transmission. Indeed, the overall potency to modify PAD was greater for SP (85%) than for CCS (44%) or Saph (60%) nerves and the effect of SP was generally a removal of PAD (9/11 trials). This suggests that sensory feedback from different skin areas during real movements could regulate differently the transmission from group I afferents (mono- and oligosynaptic) in proprioceptive pathways to motoneurons. It has been estimated that feedback from muscle afferents contributes for 35-50% of the excitability drive to motoneurons in extensors during the stance phase in walking decerebrate cats (Misiaszek et al., 2000; Hiebert and Pearson 1999). Therefore,

by modulating presynaptic inhibition, a relatively modest cutaneous stimulation (as used in our experiments) would be able to modify dramatically the motoneuronal excitability. For example, upon hitting an obstacle, the activation of the dorsum of the paw (innervated by SP) would remove presynaptic inhibition of group I afferents which, in turn, would increase the excitatory drive to motoneurons involved in the ensuing corrective movements.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

---

This work was funded by a grant from the Canadian Institutes of Health Research. A. Ménard was supported by the Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC) and by the joint Fonds pour la formation de chercheurs et l'aide à la recherche du Québec and Fonds de la recherche en santé du Québec (FCAR-FRSQ). H. Leblond was supported by the FCAR. The authors would like to thank F.-J. Lapointe for assistance in statistical analysis and F. Lebel for technical support.

## **REFERENCES**

---

Baev KV and Kostyuk PG. Polarization of primary afferent terminals of lumbosacral cord elicited by the activity of spinal locomotor generator. *Neuroscience* 7(6):1401-1409, 1982.

Burke RE. The use of state-dependent modulation of spinal reflexes as a tool to investigate the organization of spinal interneurons. *Exp Brain Res* 128: 263-277, 1999.

Côté M-P and Gossard J-P. Modulation of dorsal root potentials during fictive scratching in the cat. *Soc Neurosci Abst* 26: 460.3, 2000.

Dietz V, Quintern J, and Berger W. Afferent control of human stance and gait: evidence for blocking of group I afferents during gait. *Exp Brain Res* 61:153-163, 1985.

Dubuc R, Cabelguen J-M, and Rossignol S. Rhythmic fluctuations of dorsal root potentials and antidromic discharges of single primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 60: 2014-2036, 1988.

Eccles JC, Eccles RM, and Magni F. Central inhibitory actions attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys. *J Physiol* 159:147-166, 1961.



Eccles JC, Magni F, and Willis WD. Depolarization of central terminals of group I afferent fibres from muscle. *J Physiol* 160:62-93, 1962.

Eccles JC, Schmidt RF, and Willis WD. Depolarization of central terminals of group Ib afferent of muscle. *J Neurophysiol* 26: 1-27, 1963.

Enriquez M, Jiménez I, and Rudomin P. Segmental and supraspinal control of synaptic effectiveness of functionally identified muscle afferents in the cat. *Exp Brain Res* 107:391-404, 1996.

Faist M, Dietz V, and Pierrot-Deseilligny E. Modulation, probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait. *Exp Brain Res* 109:441-449, 1996.

Gosgnach S, Quevedo J, Fedirchuck B, and McCrea DA. Depression of group Ia monosynaptic EPSPs in cat hindlimb motoneurons during fictive locomotion. *J Physiol* 526.3:639-652, 2000.

Gossard J-P. The control of transmission in muscle group IA afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 76:4104-4112, 1996.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, and Rossignol S. Intra-axonal recordings of cutaneous primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 62(5): 1177-1188, 1989.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, and Rossignol S. Phase-dependent modulation of primary afferent depolarization in single cutaneous primary afferents evoked by peripheral stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:14-23, 1990.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, and Rossignol S. An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 65(4):914-926, 1991.

Gossard J-P and Rossignol S. Phase-dependent modulation of dorsal root potentials evoked by peripheral nerve stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:1-13, 1990.

Hiebert GW and Pearson KG. Contribution of sensory feedback to the generation of extensor activity during walking in the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 81: 758-770, 1999.

Hultborn H and Kiehn O. Neuromodulation of vertebrate motor neuron membrane properties. *Cur Op Neurobiol* 2:770-775, 1992.

Iles JF. Evidence for cutaneous and corticospinal modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents from the human lower limb. *J Physiol* 491.1:197-207, 1996.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, and Lundberg A. The effect of DOPA on the spinal cord. V. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha motoneurons of flexors and extensors. *Acta Physiol Scand* 70:369-388, 1967a.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, and Lundberg A. The effect of DOPA on the spinal cord. VI. Half-centre organization of interneurons transmitting effects from the flexors reflex afferents. *Acta Physiol Scand* 70:389-403, 1967b.

Jiménez I, Rudomin P, and Solodkin M. PAD patterns of physiologically identified fibres from the medial gastrocnemius muscle. *Exp Brain Res* 71:643-657, 1988.

Leblond H, Ménard A, and Gossard J-P. Modulation of dorsal root potentials evoked by supraspinal stimulation during fictive locomotion in the cat. *Soc. Neurosci. Abstr.* 25: 111, 1999.

Leblond H, Menard A, and Gossard J-P. Bulbospinal control of spinal cord pathways generating locomotor extensor activities in the cat. *J Physiol (Lond)* 525:225-240, 2000.

Lund S, Lundberg A, and Vyklicky L. Inhibitory action from the flexor reflex afferents on transmission to Ia afferents. *Acta Physiol Scand* 64:345-355, 1965.

Matthews PBC. *Mammalian muscle receptors and their central actions*. London: Arnold, 1972.

Ménard A, Leblond H, and Gossard J-P. Effects of cutaneous input on the modulation of primary afferent depolarization in muscle group I fibres during fictive locomotion in the cat. *Soc Neurosci Abstr* 24:1414, 1998.

Ménard A, Leblond H, and Gossard J-P. The modulation of presynaptic inhibition in single muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurosci* 19:391-400, 1999.

Mendell L. Properties and distribution of peripherally evoked presynaptic hyperpolarization in cat lumbar spinal cord. *J Physiol* 226: 769-792, 1972.

Misiaszek JE, DeSerres SJ, Stein RB, Jiang W, and Pearson KG. Stretch and H reflexes in triceps surae are similar during tonic and rhythmic contractions in high decerebrate cats. *J Neurophysiol* 83:1941-1950, 2000.

Morin C, Pierrot-Deseilligny E, and Hultborn H. Evidence for presynaptic inhibition of muscle spindle Ia afferents in man. *Neurosci Lett* 44:137-142, 1984.

Nusbaum MP, El Manira A, Gossard J-P, and Rossignol S. Presynaptic mechanisms during rhythmic activity in vertebrates and invertebrates. In: *Neurons, networks, and motor behavior*, edited by Stein PSG, Grillner S, Selverston AI, and Stuart DG, Cambridge, MA: MIT Press, 1997 p. 237-253.

Nicoll RA and Alger BE. Presynaptic inhibition: transmitter and ionic mechanisms. *Int Rev Neurobiol* 21:217-258, 1979.

Rossignol S. Neural control of stereotypic limb movements. In: *Handbook of physiology, Exercise: Regulation and integration of multiple systems*, Oxford: Am Physiol Soc, 1996, sect.12, p. 173-216.

Rossignol S, Beloozerova I, Gossard J-P, and Dubuc R. Presynaptic mechanisms during locomotion. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control*, edited by Rudomin P, Romo R, and Mendell L, New York: Oxford Univ. Press, 1997, p. 385-397.

Rudomin P, Jimenez I, Solodkin M, and Duenas S. Sites of action of segmental and descending control of transmission on pathways mediating PAD of IA and IB afferent fibers

in cat spinal cord. *J Neurophysiol* 50(4):743-769, 1983.

Rudomin P, Numez R, Madrid J, and Burke RE. Primary afferent hyperpolarization and presynaptic facilitation of IA afferent terminals induced by large cutaneous fibers. *J Neurophysiol* 37:413-429, 1974.

Rudomin P and Schmidt RF. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 129:1-37, 1999.

Rudomin P, Solodkin M, and Jiménez I. PAD and PAH response patterns of group IA- and Ib fibers to cutaneous and descending inputs in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 56(4):987-1006, 1986.

Schmidt RF. Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. *Ergebn Physiol* 63:20-101, 1971.

Simonsen E B and Dyhre-Poulsen P. Amplitude of the human soleus H reflex during walking and running. *J Physiol* 515: 929-939, 1999.

Sinkjaer T, Andersen JB, Ladouceur M, Christensen LOD, and Nielsen J. Major role for

sensory feedback in soleus EMG activity in the stance phase of walking in man. *J Physiol* 523:817-827, 2000.

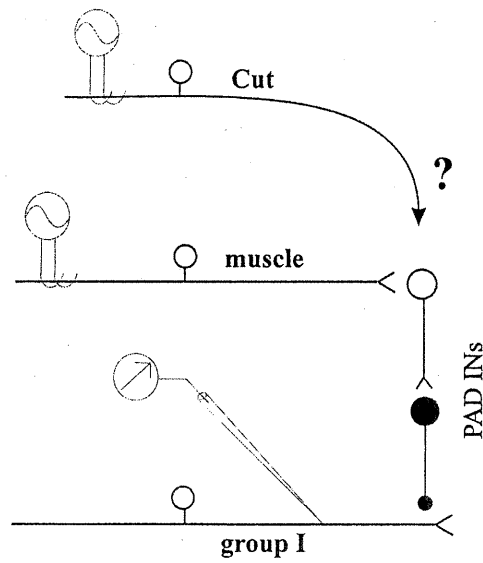
Sinkjaer T, Andersen JB, and Larsen B Soleus stretch reflex modulation during gait in humans. *J Neurophysiol* 76:1112-1120, 1996.

Stephens MJ and Yang JF. Loading during the stance phase of walking in humans increases the extensor EMG amplitude but does not change the duration of the step cycle. *Exp brain research* 124:363-370, 1998.

Stein RB and Capaday C. The modulation of human reflexes during functional motor tasks. *TINS* 11:328-332, 1988.

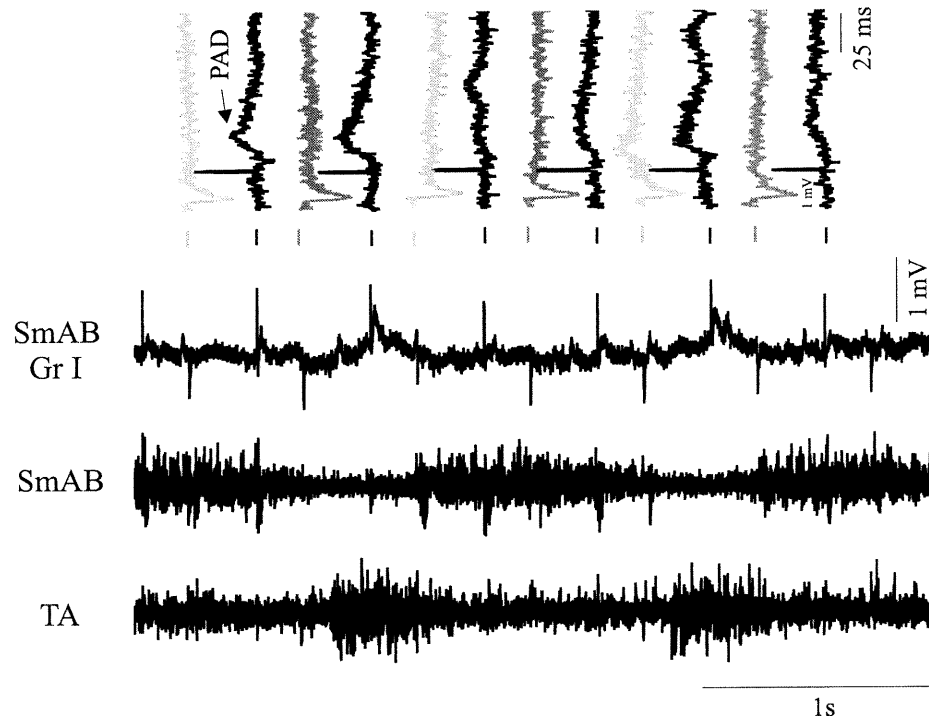
Willis WD, Numez R, and Rudomin P. Excitability changes of terminal arborizations of single IA and IB afferent fibers produced by muscle and cutaneous conditioning volleys. *J Neurophysiol* 39(6):1150-1159, 1976.

Yang JF, Whelan PJ. Neural mechanisms that contribute to cyclical modulation of the soleus H-reflex in walking in humans. *Exp Brain Res* 95:547-556, 1993.

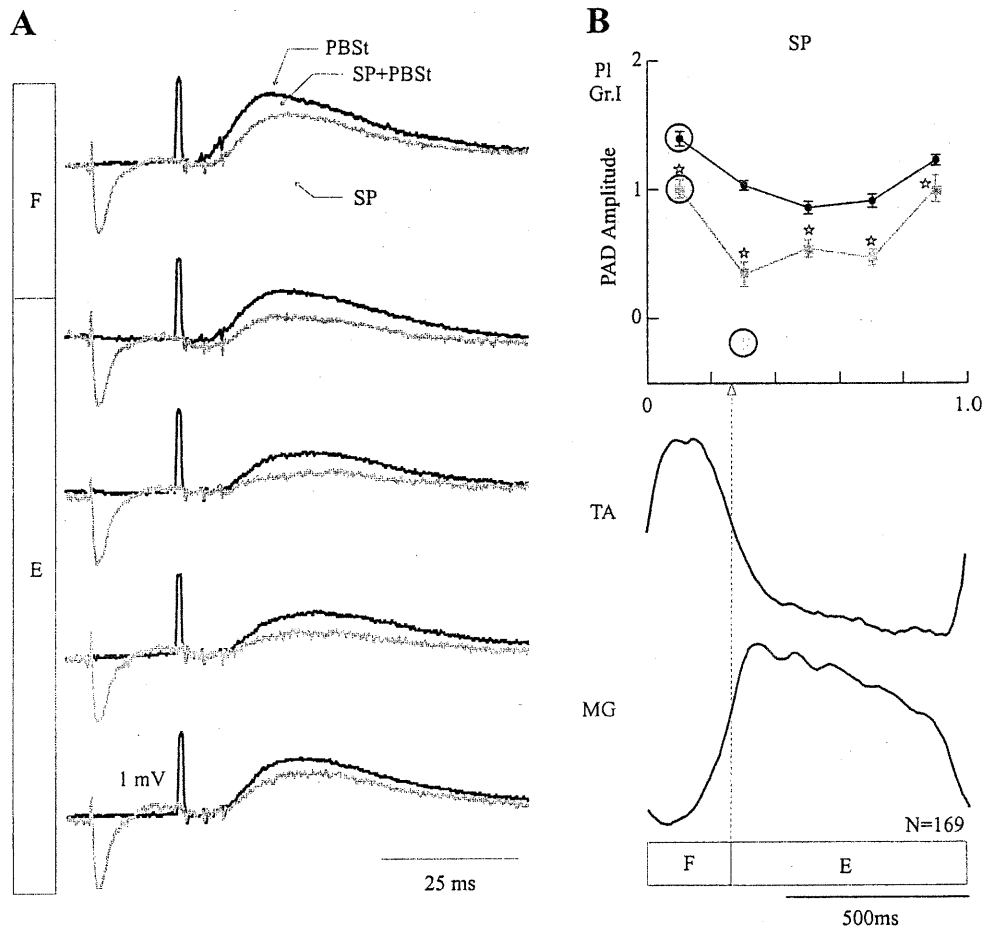


*Figure 1.* Schematisation of the circuitry under investigation. Stimulation of a muscle afferents activates PAD interneurons (PAD INs) contacting terminals of a group I muscle afferent impaled by a micropipette. Cutaneous and muscle afferents are stimulated electrically to see how they interact when PAD interneurons are driven by the CPG for locomotion.

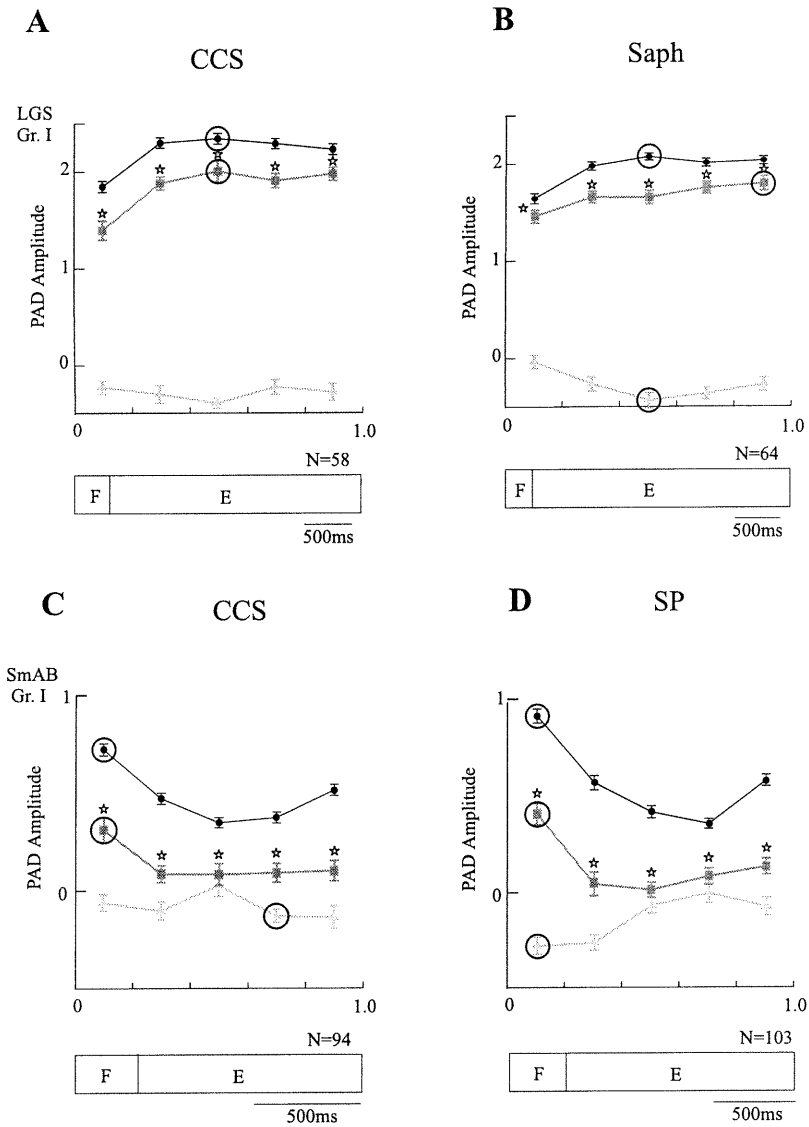




*Figure 2.* Raw signals recorded during an episode of fictive locomotion. Top to bottom: axonal potentials (tilted 90°) in response to muscle (in black), cutaneous (in light grey) and combined stimuli (in dark grey) are interleaved; intra-axonal recording of a group I fibre from SmAB; SmAB and TA bursts of ENG activities.



**Figure 3.** Cutaneous and muscle input interaction in a PI group I fibre during spontaneous fictive locomotion. **A**, Superimposition of the axonal responses to muscle (PBSt, in black), cutaneous (SP, light grey) and combined stimuli (SP+PBSt, in dark grey) averaged for each of the 5 bins dividing the fictive step cycle. The flexion and extension phases are represented as F and E boxes respectively. **B**, In this graph are plotted the integrated amplitude (with SEMs) of every averaged axonal responses illustrated in A. Circles indicate the statistical maximum in PAD amplitude in response to muscle or combined stimuli (top two curves) and the maximal PAH amplitude in response to cutaneous stimulus alone (lower curve). Stars indicate statistical differences ( $p < 0.05$ ) in amplitude between PADs evoked by muscle stimuli and PADs evoked by the combined stimuli. Under the graph are the averaged rectified ENG activities of TA and MG representing respectively the flexor and the extensor phases of the step cycle separated by dotted line. The duration of these phases are also represented by the F and E boxes at the bottom. N, Number of averaged locomotor cycles.



*Figure 4.* Phase plots of PAD and PAH amplitude comparing the effects of SP stimuli during spontaneous fictive locomotion in a group IA (A) and a group IB (B) fibres from LGS recorded in the same decerebrate cat. Same outline as in Fig. 3B. In both fibres, curves in black are constructed from PADs evoked by PBSt (3p 2T 300Hz) stimuli, curves in light grey, from PAHs evoked by SP (1p 2T) stimulus and curves in dark grey, from PADs evoked by the combined stimuli.

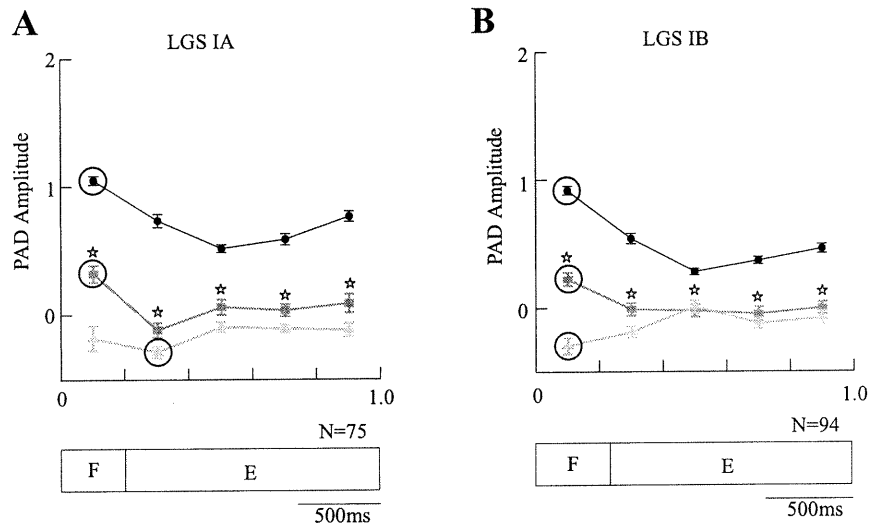
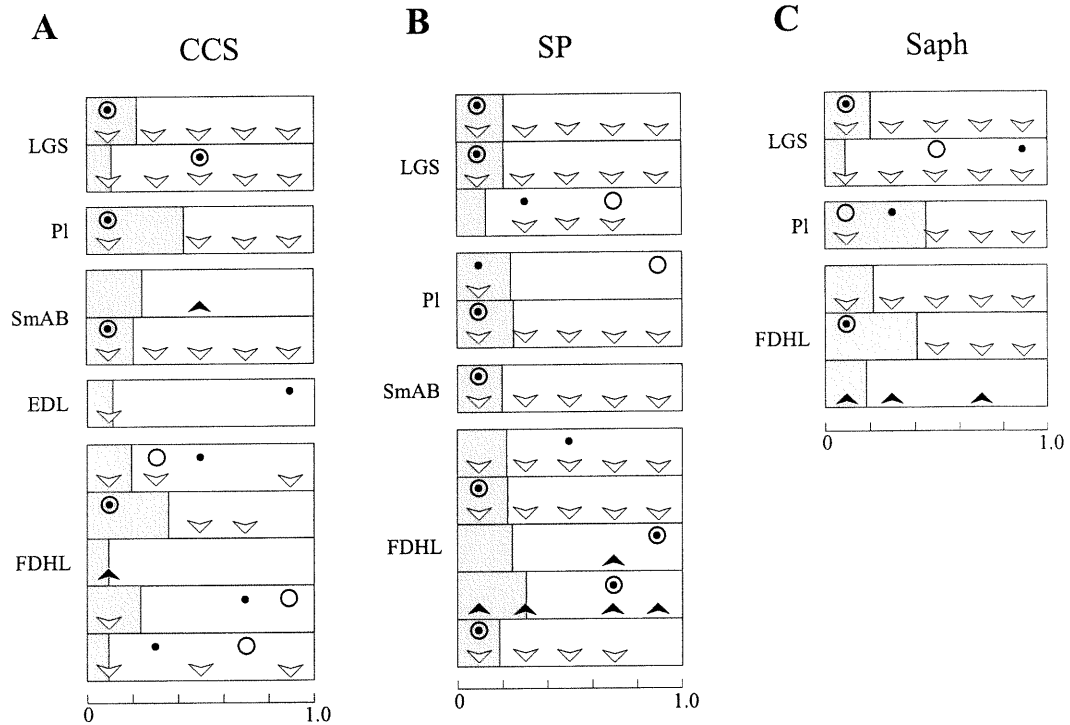


Figure 5. Phase plots of PAD and PAH amplitude comparing the effects of different cutaneous nerves during spontaneous fictive stepping in group I fibres from LGS (A,B) and from SmAB (C,D) recorded in the same decerebrate cat. The outline is the same as in Fig. 4. Curves in black are constructed from PADs evoked by PBSt (3p 2T 300Hz) stimuli, curves in light grey from PAHs evoked by CCS (A,C), Saph (B) or SP(D) stimulus (1p 2T) and curves in dark grey from PADs evoked by the combined stimuli.



*Figure 6.* Compilation of all trials showing a significant change in PAD amplitude in response to cutaneous stimuli. Each box corresponds to a phase plot in a group I muscle afferent. Trials are assorted according to the cutaneous nerve (A: CCS, B: SP and C: Saph) and according to the muscle of origin as indicated by abbreviations on the left. For each trial, the flexion phase is represented by a grey box and the extensor phase by a white box. Significant decreases ( $p < 0.05$ ) in the amplitude of PADs (evoked by PBSt) are represented by white downward arrowheads and increases, by black upward arrowheads. The bin where the maximal PAD amplitude occurred, before and following cutaneous conditioning, are indicated by an open circle and black dot respectively. If the bin of maximal PAD amplitude did not change because of the cutaneous input, the dot is superimposed on the circle.

## **ARTICLE # 3**

### **The modulation of monosynaptic transmission by presynaptic inhibition during fictive locomotion in the cat**

par

Ariane Ménard, Hugues Leblond and Jean-Pierre Gossard

Experimental Brain Research 2001 (soumis)

**ABSTRACT**

---

The aim of this study was to investigate the effect of multisensory inputs onto the presynaptic inhibitory pathways affecting IA terminals during fictive locomotion. The effect was evaluated from measurements of the monosynaptic excitatory postsynaptic potential (EPSP) recorded intracellularly in identified lumbosacral motoneurons. The multisensory inputs consisted of muscle group I afferents from a bifunctional hindlimb muscle, posterior biceps-semitendinosus or PBSt, commonly used to evoke presynaptic inhibition in many afferent terminals and of different cutaneous nerves: superficial peroneal (SP); caudal cutaneous sural (CCS) and Saphenous (Saph). PBSt and cutaneous stimuli, given individually and in combination, preceded the monosynaptic EPSP evoked by the stimulation of group I afferents. Also, a square current pulse was injected through the micropipette just before the onset of the EPSP to evaluate somatic changes in membrane input resistance. The evoked EPSPs were grouped and averaged according to their timing within the fictive step cycle which was divided into 5 bins. Statistical analysis was applied to compare the integrated amplitude of EPSPs conditioned by PBSt input alone to those conditioned by the combined PBSt and cutaneous inputs. We also compared each bin dividing the step cycle to disclose phase-dependent modifications in monosynaptic transmission. Adequate records were retained from 19 motoneurons. The results showed that: 1) there was a significant phase-dependent modulation (by 24.7%) in EPSP amplitude in 14/19 motoneurons and the maximum usually (12/14) occurred during the depolarized phase in the cell; 2) PBSt stimuli reduced the EPSP amplitude (21.3% on average) in at least one bin in 18/19 motoneurons. The reduction could be seen in 3.2 bins on average i.e. a major part of the step cycle; 3) in about half of the trials (21/40), preceding the PBSt by cutaneous inputs could further modify the EPSP size (up or down) but only in 1-2 bins;

4) comparison between the 3 different cutaneous nerves revealed that SP was the most efficient in affecting the EPSP (73% of trials) and, in most cases (8/11), was able to remove some of the PBSt-evoked reduction in EPSP size. The absence of important changes in membrane input resistance suggests that most of the EPSP modifications were due to presynaptic inhibition. The results thus suggest that, during fictive locomotion, muscle afferents can induce an important phase-dependent reduction in monosynaptic transmission to motoneurons and that concomitant activation of cutaneous afferents can further modify this reduction but only for a restricted part of the step cycle. The relationship between the CPG and presynaptic inhibitory pathways in the control of monosynaptic transmission is also discussed.

**Keywords:** Presynaptic inhibition, monosynaptic excitation, locomotion, spinal cord, motoneurons.



## **INTRODUCTION**

---

When the spinal cord networks go from rest to locomotion, there is a transition from reflex system operating under a postural control mode to a reflex system that contributes to a regulation of locomotor output (Rossignol 1996; Büschges and El Manira 1998; McCrea 2001). Reorganisation of reflex systems may involve mechanisms such as suppression or emergence of some reflex pathways and modulation of the gain of others (Pearson 1995). Stretch reflex is not spared from this later kind of alteration. Actually, the gain of the stretch reflex during locomotion is modulated in a state- and a phase-dependent manner. The state-dependent modulation is reflected as a tonic down-regulation which means that, on average, over the cycle of movement, the reflex gain is lower than that observed when the subject stand still (Akazawa et al. 1982; Yang and Whelan 1993). The phase-dependent modulation is reflected as an appearance of variations of reflex gain between different phases of the locomotor cycle, being high during the phase when the muscle is active (Sinkjaer et al. 1996, 2000; Stein and Capaday 1988; Faist et al. 1996; Simonsen and Dyhre-Poulsen 1999).

Mechanisms responsible for modulation of reflex gain, can be pre- or postsynaptic. Because of the simple connectivity implicated in the production of stretch reflex, presynaptic mechanisms seem of prime importance for gain reflex modulation during locomotion. Varying levels of presynaptic inhibition, known to be induced by GABAergic spinal interneurons that depolarize primary afferent (PAD) terminals, could indeed control transmitter release from IA afferents very efficiently (Eccles et al. 1961; Schmidt 1971; Nicoll and Alger 1979; Rudomin and Schmidt 1999). There is cumulating evidence for

presynaptic inhibition of IAs in the control of walking patterns in humans (Morin et al. 1984; Dietz et al. 1985). Actually, it was suggested that, without attenuation of transmission flow, the strong convergence from IA afferents onto motoneurons (Mendell and Henneman 1971) could disable the sensitivity of those target neurons to the modulatory effects of other inputs such as locomotor centres (Brooke et al. 1997).

Presynaptic mechanisms may be activated by two sources: inputs coming from the central neural networks (segmental and supraspinal) and those coming from the peripheral afferents. On one hand, there is evidence that segmental networks, like the central pattern generator (CPG) for locomotion, can activate presynaptic inhibitory pathways to control sensory feedback (see Nusbaum et al. 1997). For example, spontaneous cyclic waves of polarization recorded in large muscle primary afferents during fictive locomotion in cats may indicate that the CPG exerts a presynaptic action on IA afferents (Duenas and Rudomin 1988; Gossard et al. 1991). Also, depression of sensory-evoked field potentials in specific regions of the spinal cord and of monosynaptic excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) in lumbosacral motoneurons in decerebrate cats when the fictive locomotion is evoked by stimulation of the mesencephalic locomotor region (MLR) suggests that there is a state-dependent increase in presynaptic inhibition of group I, II and of cutaneous afferents (Perreault et al. 1999; Gosgnach et al. 2000; also Baev and Kostyuk 1982). Descending signals from supraspinal structures can also evoke PAD in many types of afferent terminals (Rudomin et al. 1983; Enriquez et al. 1996; cf. Rudomin and Schmidt 1999) and preliminary evidence suggests that this transmission interacts with the CPG for locomotion (Leblond et al. 1999).

On the other hand, sensory feedback produced by stepping movements can also exert a powerful influence on presynaptic inhibitory pathways to primary afferents, forming a negative feedback loop or a sensori-sensory conditioning loop. For example, a study of passive stepping (Brooke et al. 1995) and of passive pedalling (Misiaszek et al. 1995), with EMG levels comparable to rest, showed that the muscle mechanoreceptor discharge was sufficient to attenuate the amplitude of H-reflex, suggesting that sensory feedback on its own, without CPG activity, induced presynaptic inhibition of IAs. Moreover, it was found that stimulation of medial plantar nerve during walking in humans decreased the H reflex gain in soleus whereas it had little effect during quiet stance (Fung and Barbeau 1994). More direct measurements showed that muscle afferent inputs were particularly potent to evoke PAD in group I (IA and IB) muscle afferents during fictive locomotion in decerebrate cats (Ménard et al. 1999).

Presynaptic inhibition may arise from a variety of peripheral sources induced by movements. Indeed, PAD interneurons receive a multimodal convergence of sensory inputs that can interact with one another (cf. Schmidt 1971, Rudomin and Schmidt 1999). Such interaction, notably between muscle and cutaneous inputs, was best described in anaesthetized cats (Enriquez et al. 1996). This was also tested for the soleus H reflex in humans (Iles 1996). Results from both studies indicate that cutaneous inputs can reduce presynaptic inhibition, evoked by muscle nerve stimulation, in muscle group I afferents. Additionally, an interaction between central (CPG) and peripheral inputs occurs during locomotion (Dubuc et al. 1988; Duenas and Rudomin 1988; Gossard and Rossignol 1990; Gossard et al. 1990). For example, our recent work showed that the amplitude of PAD in group I muscle afferents, evoked by muscle inputs, was modulated in a phase-dependent manner by the CPG during fictive locomotion (Ménard et al. 1999).

We thus speculate that the complex interplay of multisensory inputs and of CPG commands onto presynaptic inhibitory pathways would be, in part, responsible for gain regulation in the monosynaptic reflex pathway during locomotion. We thus investigated, to what extent, multimodal sensory inputs were able to gate monosynaptic transmission to motoneurons during locomotion. We measured the modulation of monosynaptic EPSPs in lumbosacral motoneurons which was assumed to be attributable to presynaptic inhibition of IA afferents evoked by the stimulation of muscle and cutaneous nerves during fictive locomotion in decerebrate cats.

## **METHODS**

---

### *Surgical procedures*

Seven adult female cats (2.7-4.3kg) were used for these experiments which were conducted in compliance with the Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canada) and the Ethics Committee of Université de Montréal. Details of the preparation can be found in a previous publication (Ménard et al. 1999). In brief, the animals were anaesthetized with a mixture of halothane (2-3%) oxygen (50%) and nitrous oxide (50%) during the time of the surgery which included insertion of cannulae for monitoring blood pressure and administration of fluids, nerve dissection, lumbar laminectomy (L4-L7) and craniotomy. Cats were then decerebrated with a transection at the precollicular postmammillary level and removal of all rostral brain tissue (Ménard et al. 1999; Leblond et al. 2000).

The following muscle and cutaneous nerves from the left hindlimb were dissected free: posterior biceps-semi-tendinosus (PBSt), semimembranosus-anterior biceps (SmAB), lateral gastrocnemius-soleus (LGS), medial gastrocnemius (MG), plantaris (PI), flexor digitorum longus and flexor hallucis longus together (FDHL), tibialis anterior (TA), extensor digitorum longus (EDL), superficial peroneus (SP), caudal cutaneous sural (CCS), saphenous (Saph). All these nerves were dissected free but not cut except for PBSt, SmAB and CCS. The nerve Saph was mounted in a polymer cuff electrode.

After decerebration, anaesthesia was discontinued and the cats were paralysed with Pavulon (Pancuronium bromide; 0.2mg/kg supplemented every 45 min) and artificially ventilated (pCO<sub>2</sub> maintained around 4%). Pools filled with warm mineral oil were constructed around the spinal cord and around hindlimb nerves which were mounted on bipolar electrodes for recording (electroneurogram, ENG) or stimulation. Fictive locomotion occurred spontaneously following decerebration in the seven cats.

### *Recording and stimulation*

Stimulus intensity was expressed as a multiple of the threshold (T) for the most excitable fibres in the nerve which is the stimulus strength required to just evoke a deflection in the cord dorsum potential (CDP). The methods for intracellular recordings used in this study have been published previously (Leblond et al. 2000). Motoneurons were recorded intracellularly with glass micropipettes (2-5 M $\Omega$ ) filled with 100 mM QX314 (Alamone Laboratories, Jerusalem, Israel) to prevent sodium spikes and 2M K<sup>+</sup>-acetate and were identified by antidromic invasion from muscle nerve stimulation. FDL and FHL motoneurons were distinguished by their different patterns of locomotor-drive potentials (LDP). A dorsal rootlet from rostral L6 was cut and its proximal end recorded with a bipolar electrode. The recorded dorsal root potential (DRP) was a way to monitor the appearance of PAD in numerous axons in response to the peripheral stimuli.

Heteronymous or homonymous monosynaptic excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) were evoked by stimulating group I fibres (1p 1.5T) from the parent or synergist

muscle nerve. PAD pathways were activated by the stimulation of PBSt nerve (2T 3p 300Hz) or by the combined stimulation of PBSt with the stimulation of a cutaneous nerve (CCS, SP or Saph) given at 2T (1-3p, 300Hz). Once every third stimulus, the monosynaptic stimulation was coupled with PBSt alone or combined with the cutaneous stimulus. All the stimuli were delivered alternatively allowing the comparison within the same locomotor episode. More specifically, the sequence of stimuli produced the EPSP alone followed by the EPSP conditioned, once every other, by the stimulation of muscle afferents or by the combined stimulation of muscle and cutaneous afferents.

Because the maximal effect produced by PAD interneurons occurs around 20 ms (Eccles et al. 1961, 1962a, b, 1963a,b), the muscle stimulus preceded the EPSP by such an interval as well as the cutaneous stimulus preceded the muscle stimulus. Similar stimulation protocols have been frequently used in previous work on PAD pathways (e.g. Lund et al. 1965; Willis et al. 1976; Rudomin et al. 1983, 1986; Jiménez et al. 1988; Enriquez et al. 1996). Also, in order to estimate if there were important changes in motoneuronal membrane impedance, a hyperpolarizing current pulse (5ms, 3nA) was delivered through the micropipette just before the occurrence of the monosynaptic EPSP. Trials showing important post-synaptic changes at the moment of EPSP onset were rejected from the analysis. EPSPs were considered to be monosynaptic if they had a central latency of < 1msec. The amplitude of EPSP (see grey area in Fig.1) was measured in order to avoid a possible disynaptic component which could usually be detected as a small deflection occurring around 1.5 -2.0ms (McCrea et al. 1995).

### *Data collection and analysis*

Data suited for analysis were digitized and analysed with interactive custom-made software (Spinal Cord Research Centre, University of Manitoba, Winnipeg, Canada). The fictive step cycle, defined as two successive phases of the locomotor drive potential (LDP) recorded in motoneurons was normalized and divided into 5 equal portions or "bins" beginning with the flexor phase. Responses to the different stimuli occurring in similar bins were respectively averaged together (cf. Fig. 6A). The retained runs had averages of at least 10 responses per bin in a majority of bins. Phase plots of the integrated amplitude of the averaged EPSP were constructed (cf. Ménard et al. 1999). The amplitude of EPSPs, of EPSPs conditioned by muscle afferent volleys or by combined muscle-cutaneous afferent volleys, were plotted in the same phase plot as separate coloured curves (e.g. Fig. 6B). Averaged rectified ENG activities of a flexor and an extensor nerve were aligned with the plot in order to identify the different phases of the fictive step cycle (e.g. Fig. 2) which were also simply illustrated as F and E boxes for clarity in the following figures (Fig. 3, 4, 6, 7).

At first, we performed the Kolmogorov-Smirnov-Liliefors statistical test and it confirmed that some values were nonparametric. In order to determine if the CPG for locomotion was modulating the EPSP amplitude, the Mann-Whitney U tests were used to compare the largest EPSP amplitude with values of every other 4 bins. When a significant difference was found, the bin with the maximal EPSP amplitude was represented by an empty circle and by a black dot when preceded by the stimulation of muscle afferents in Fig. 5. Subsequently, in every bin, the same statistical tests were used to compare the



amplitude of EPSPs to EPSPs conditioned by the muscle afferents and to EPSPs conditioned by the combined muscle-cutaneous afferents. A significant ( $p < 0.05$ ) difference in EPSP amplitude was indicated by a star in phase plots and by an arrow in Fig. 5. In Fig. 5, a downward (empty) arrow indicates a reduction of EPSP amplitude by stimulation of muscle afferents. A cross in the phase plots, or an arrowhead in Fig. 8, indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the EPSPs conditioned by muscle afferents and the EPSPs conditioned by combined muscle-cutaneous afferents. These last symbols thus indicate a further significant change ( $p < 0.05$ ) in EPSP amplitude because of the additional cutaneous input. Standard error of the mean (SEM) are also illustrated for each bin in all phase plots.

## **RESULTS**

---

EPSPs were recorded in a total of 44 motoneurons during fictive stepping occurring spontaneously in 7 cats. Complete and satisfactory sequences of conditioned monosynaptic EPSPs from 19 motoneurons (2 MG, 6LGS, 4PI, 3FHL, 2TA, 2EDL) were retained for analysis. Figure 1 depicts the raw recordings evoked by a combined stimuli preceding the monosynaptic EPSP (arrow). From top to bottom are illustrated the intracellular recording from a LGS motoneurone, the dorsal root potential (DRP) from L6 and the CDP in a same time window. The cutaneous stimulation (CCS 2T 1p) preceded the onset of EPSP by 40 ms and the PBSt (2T 3p 300Hz) stimuli, by 20 ms. Note, in the first trace, that the membrane potential at the onset of the EPSP is very close to the baseline potential recorded before the stimuli. The large square trough before the EPSP is an injected current pulse (3 nA) through the micropipette (see Methods). The appearance of a large DRP indicates that the chosen peripheral stimuli could produce PADs in numerous primary afferents. The maximum DRP amplitude occurring slightly after the EPSP (electrotonic delay) suggests to us that maximal PADs in IA terminals occurred around the time of the EPSP.

### *CPG -related modulation of monosynaptic EPSP in motoneurons*

In this section, we verified if the CPG for locomotion on its own affected the monosynaptic EPSP amplitude. Figure 2 illustrates the modulation of homonymous monosynaptic EPSPs recorded in a plantaris (PI) motoneurone during spontaneous fictive

locomotion. Fig. 2A is a superposition of the EPSP averaged for each of the 5 bins dividing the locomotor cycle. The amplitude of the EPSP occurring in the 1<sup>st</sup> bin is clearly smaller than the amplitude obtained in the rest of the cycle. In Fig. 2B, a phase plot was constructed from the values of EPSP amplitude measured in each bin (see Methods). From this plot, we can follow the changes in EPSP amplitude over the normalized cycle. The extensor phase (E box) is represented under the plot by the depolarized phase of the LDP in the PI motoneurone. Also represented is the averaged ENG activity in the EDL nerve. As seen in Fig. 2A, the minimum EPSP amplitude occurred during the 1<sup>st</sup> bin of the step cycle i.e. during the flexor phase (F box). The maximum EPSP occurred in the 3<sup>rd</sup> bin, in the middle of the extensor phase. Moreover, as the star indicates, only the EPSPs occurring in the 1<sup>st</sup> bin were significantly smaller than the maximum EPSP amplitude. The monosynaptic transmission to this PI motoneurone was considered to be phasically modulated, being maximal in extension and significantly smaller during flexion.

Overall, a CPG-related phasic modulation of monosynaptic EPSPs occurred in 14/19 motoneurones retained for analysis (see Fig.5). Moreover, when looking at the distribution along the step cycle, maximal amplitude was found during the extensor phase in extensors and during the flexor phase in flexors i.e. during the active phase of the motoneurones in most (12/14) cases. Additionally, significant modulation occurred in 1.6 bins on average i.e. during a rather narrow section (32%) of the step cycle. Also, the averaged depth of modulation for the 14 motoneurones was 24.7% (from 12.6 to 38.3%). Finally, systematic comparison of current pulse amplitude measured during the active and inactive phases of LDP revealed no statistical difference between these phases suggesting that EPSP modulation was not primarily due to important postsynaptic changes in membrane ionic conductances but to modifications in presynaptic inhibition (see

Discussion).

### ***Action of muscle afferents on monosynaptic transmission***

As mentioned before, in addition to the CPG, sensory feedback produced by stepping movements may activate presynaptic inhibitory pathways during locomotion. In this section we thus investigate the modulation of the monosynaptic transmission to motoneurons evoked by the stimulation of muscle group I afferents during fictive locomotion.

Figure 3 illustrates the modulating responses of a PI motoneurons during fictive locomotion. In Fig. 3A are superimposed the "control" averaged EPSP evoked by stimulating PI (1p 1T) alone (traces in black) and the EPSPs preceded by the stimulation of PBSt (3p 2T 300Hz; traces in grey). It is clear that the PBSt stimuli decreased to some degree the EPSP amplitude in each of the 5 bins. The height of the histograms on the right of Fig. 3A represents the averaged integrated EPSP amplitude expressed as a percentage of the maximal "control" EPSP amplitude (encountered in the 3<sup>rd</sup> bin). All histograms shaded in grey being smaller than the histograms in black reflect the EPSP decrease in amplitude because of the PBSt stimuli. In the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> bins, the stars indicate a significant difference between control and conditioned-EPSP amplitude. Amplitude values were also used to construct the phase plots of Fig. 3B. The "control" EPSP amplitude is represented by the black curve and the conditioned EPSP amplitude is represented by the grey curve. All individual values are also plotted as black diamonds for control EPSPs and

as empty squares for conditioned- EPSPs. Comparison between the two curves confirms that the PBSt stimuli decreased the EPSP amplitude over the entire step cycle but not equally for each bin. Furthermore, there was no simple relationship between the degree of reduction and the size of the control EPSP as illustrated in Fig.3C. In this graph, the individual values EPSP amplitude are plotted according to their control size. The degree of reduction appears to be less at both extremes i.e. for the smallest EPSP and the largest EPSP amplitude. These last observations suggest that the level of PBSt-evoked reduction may be independent of the CPG-related modulation in monosynaptic transmission.

We thus investigated further if muscle afferents could not only change the EPSP amplitude but also the phasic pattern of CPG-related modulation. Fig. 4A illustrates the most common finding i.e. the PBSt stimuli did not simply subtract a constant level of excitation. In this TA motoneurone, the depth of modulation in EPSP amplitude was actually increased by PBSt stimuli. In the control situation (curve in black), the maximal EPSP amplitude occurred at the very end of the flexor phase (2<sup>nd</sup> bin) being significantly larger than the during the rest of the cycle. When the EPSP was preceded by PBSt stimuli, (curve in grey), the EPSP amplitude was significantly reduced only in the last 3 bins of the cycle and this phasic reduction, in turn, increased the depth of EPSP modulation. In contrast, Fig. 4B illustrates an example where the CPG-related modulation was lost because of the conditioning. In this LGS motoneurone, there was a clear phasic modulation of the control EPSP (curve in black) with the maximum amplitude occurring in the 2<sup>nd</sup> bin. When preceded by the PBSt stimuli (curve in grey), the EPSP amplitude was significantly reduced in 4/5 bins as indicated by the stars. This major reduction removed significant differences between the EPSP values and therefore, there was no more significant CPG-related modulation.

Results from the retained 19 motoneurons are grouped in Fig.5 according to their muscle of origin (abbreviated on the left). Each box represents the normalized step cycle divided in 5 bins with the grey box representing flexion and the white one, extension. For each motoneurone (box), a statistically significant reduction in monosynaptic EPSP amplitude because of the stimulation of muscle afferents is indicated by a downward arrow (which corresponds to a star in the phase plots) Note that muscle afferent stimulation reduced EPSP amplitude in at least one bin in 18/19 motoneurons. On average, the reduction could be seen in 3.2 bins i.e. a major part (64%) of the step cycle. This is twice as much as the average number of bins (1.6) being modulated by the CPG. As exemplified in Fig. 3, there was no simple relationship between the moments or epochs of maximal reduction and the two main phases of the locomotor cycle. As described for PAD modulation in axons (Ménard et al. 1999), there was no obvious link between the patterns of EPSP reduction and the muscular origin of the IAs. In these 18 cells, the EPSP averaged over the entire episode of stepping (irrespective of the bins) was decreased by 21.3% by PBSt stimuli. It is noteworthy that PBSt stimuli also induced significant phasic changes in membrane input resistance in about half of motoneurons but only by 4% on average. There was no obvious relationship between the magnitude of conductance change and the magnitude of PBSt-evoked reduction in EPSP in a given cell.

Fig.5 also depicts the bin where the maximal amplitude of EPSP occurred in the control situation (empty circle) and when preceded by the PBSt stimuli (black dots). Among the 14 motoneurons showing a CPG-related modulation of EPSP, nine showed a slight increase in the depth of modulation due to the PBSt stimulation (from 26.2 to 29.1%). In the other five cells, the PBSt stimuli actually removed the EPSP modulation. In 6

motoneurones, there is a superimposition of the circle and the dot, meaning that the maximal EPSP amplitude occurred in the same bin, with or without conditioning. In 3 other motoneurones, the moment of maximal EPSP was shifted by 1 or 2 bins. Finally, out of the 5 motoneurones showing no modulation (no circles), the PBSt stimulation was able to induce a significant phasic modulation in two, as indicated by a single dot.

### ***Action of the combined muscle and cutaneous afferents on monosynaptic transmission***

Locomotor movements are likely to induce, not only discharge in muscle afferents (as those in PBSt) but also discharge in cutaneous afferents as the skin of the hindlimbs stretches, folds and contacts the ground. In this section, we looked at the effect of combining two different sensory modalities on the transmission of monosynaptic EPSP during fictive locomotion. As discussed later, we assume that most of the changes in EPSP size are resulting from the complex interaction of CPG, muscle and cutaneous afferent inputs onto presynaptic inhibitory pathways.

Figure 6 illustrates the most common finding with the responses of a PI motoneurones during fictive locomotion. The outline of Fig. 6 is the same as Fig. 3. In Fig. 6A are superimposed, for each bin, the control EPSPs evoked by PI (1p 1.5T; black traces), the EPSPs evoked by the same stimulus preceded by PBSt (2T 3p 300 Hz; traces in dark grey) and the EPSPs preceded by combined stimulation (SP 2T 1p succeeded by PBSt 2T 3p 300Hz; traces in light grey). The averaged EPSP amplitude is represented in

the histograms as percentages of the maximal control EPSP size encountered in the 5<sup>th</sup> bin. In Fig. 5A, the PBSt-conditioned EPSPs (traces in dark grey) are all smaller than the control EPSPs (traces in black) indicating that PBSt stimuli reduced the EPSP amplitude in all bins (as in Fig. 3). This reduction was found statistically significant as indicated by the stars located over the 5 histograms shaded in dark grey on the right of Fig. 6A. On the other hand, the amplitude of EPSPs conditioned by the combined stimuli (traces in light grey) was found significantly smaller than the control EPSPs in 4 bins as indicated by stars on the top of histograms shaded in light grey. Moreover, the level of reduction evoked by the combined stimuli was not different than the reduction evoked by the PBSt stimuli alone except for one bin. Indeed, in the 2<sup>nd</sup> bin, the combined stimuli did not reduce the EPSP amplitude significantly, in other words, the SP stimulus succeeded to remove the reduction evoked by PBSt alone in that bin. This removal was found significant as indicated by the cross overlaying the two histograms in grey.

The values of averaged EPSP amplitude were also used to construct phase plots as shown in Fig. 6B. The upper curve (in black) shows a phase-dependent modulation of the control EPSP amplitude. There is a clear trough occurring in the 2<sup>nd</sup> bin indicating a CPG-related decrease in EPSP amplitude which then progressively increases to a maximum at the end of the extension. The curve in dark grey indicates that PBSt stimuli produced a significant decrease in EPSP amplitude in all 5 bins as indicated by the stars. On the other hand, as indicated by the cross, the additional SP input was able to remove EPSP reduction significantly in the 2<sup>nd</sup> bin i.e. at the transition from flexion to extension. This, in turn, reduced the depth of the phase-dependent modulation.



We also examined whether the combination of muscle stimuli with different cutaneous nerves, innervating different skin areas, could have specific actions on monosynaptic transmission. We were able to test the effects of all three cutaneous nerves, CCS, SP and Saph, in 11 motoneurons during fictive locomotion. In Fig.7 are illustrated the results from a FHL motoneurone. In this cell, the amplitude of the control EPSPs did not follow a phase-dependent modulation. This can be seen in the phase plots of Fig. 7A, B and C where the upper curve (in black) is more or less flat. The muscle stimuli (PBST 3p 2T 300Hz) induced a clear, and significant, decrease in the EPSP amplitude (curves in dark grey) in all bins, as indicated by the stars. The additional CCS (Fig. 7A) or SP (Fig. 7B) inputs (curves in light grey) further modified the amplitude of the EPSP in some bins but these modifications did not reach statistical significance. However, as indicated by the cross in Fig.7C, the Saph stimulation further decreased significantly the amplitude of the EPSP in the 5<sup>th</sup> bin of the step cycle. This, in turn, induced a significant phase-dependent modulation in EPSP amplitude.

Overall, the combined muscle-cutaneous stimuli did not change (by less than 1%) the amplitude of the EPSP already reduced by the PBSt stimuli, as averaged over the entire episode of stepping. However, as depicted in Fig. 7C, some subtle cutaneous effects occurred in specific parts of the step cycle. In figure 8 are compiled all trials (n=40) where the amplitude of EPSPs was significantly modified in at least one bin by PBSt stimuli and where the addition of a cutaneous stimulation was tested. The trials are organized according to the motoneuronal identity and according to the cutaneous nerve being tested: CCS in A, SP in B and Saph in C. Each box shows the changes in control EPSP amplitude for each of the 5 bins of a normalized step cycle. A downward arrowhead represents an additional reduction in EPSP amplitude already decreased by PBSt alone. An upward

arrowhead represents a removal of EPSP reduction.

Overall, it was found that cutaneous stimuli evoked additional changes in EPSP amplitude in about half of the trials (21/40) in one or two bins. Cutaneous input was thus able to regulate group IA transmission in a very discrete fashion, for a very restricted part of the step cycle (see Discussion). In 4/21 positive motoneurons, the cutaneous input could evoke opposite effects in different parts of the step cycle: increasing the inhibition of the EPSP in one phase and removing it in the other (e.g. SP effects in the 4<sup>th</sup> LGS motoneurons). In the rest (17/21), cutaneous inputs could either remove (n=8) or further increase (n=9) the inhibition of EPSPs evoked by muscle afferents. It is quite obvious that changes in EPSP amplitude were most frequently encountered with the SP nerve in B (73% of trials, 11/15 ) followed by Saph (55% of trials, 6/11 ) and CCS (29% of trials, 4/14) which hardly affected the EPSP. The most frequent effect for SP (8/11) and CCS (3/4) was a removal of the PBSt-evoked EPSP reduction in at least 1 bin. Finally, the combined stimuli induced significant changes in membrane resistance in 44% of motoneurons by only 5% on average as compared to controls.

## **DISCUSSION**

---

The aim of this work was to investigate the influence of multimodal sensory inputs onto the presynaptic inhibitory pathways while the spinal cord circuitry was organized to produce locomotor commands. It is now clear that the connectivity in many spinal cord pathways is functionally re-organized when the CPG is activated. There are indeed state- and phase-dependent changes in the transmission of several excitatory and inhibitory reflex pathways (cf. Gossard et al. 1994; Pearson 1995; Rossignol 1996). The mechanisms underlying these changes are the keys to understand the sensory control of stepping. Recent work, including our own, indicates that presynaptic inhibitory pathways undergo similar changes during fictive locomotion (Perreault et al. 1999; Gosgnach et al. 2000; Ménard et al. 1998, 1999; Leblond et al. 1999) and scratching (Côté et al. 2000). While our previous efforts were based on PAD measurements, this study rather focussed on the *effects of PAD* on synaptic transmission. The stimulation protocol used in this study is known to evoke important PAD in IAs and, as discussed below, we assume that changes in the monosynaptic EPSP amplitude reflected mostly changes in the transmission in PAD pathways projecting to IAs.

### ***CPG -related modulation of monosynaptic transmission***

Our intracellular recordings showed that the monosynaptic EPSP amplitude was significantly modulated during spontaneous episodes of fictive locomotion in a majority of motoneurons (14/19; 74%) with an averaged depth of modulation of 24.7%. In the

majority of cells (12/14; 86%), the maximal amplitude occurred during the active depolarized phase of the motoneurons. These results corroborate, to some extent, previous reports on monosynaptic transmission during locomotion in the cat. The same result was obtained with recordings of unitary EPSPs, evoked by a single IA axon, during fictive locomotion in similar cats (Gossard 1996). Schomburg and Behrends (1978) reported a phase-dependent modulation of EPSP (by 27%) reaching a maximum during the depolarized phase in motoneurons during fictive locomotion in DOPA-treated spinal cats. In a subsequent study, during fictive locomotion evoked by stimulation of the MLR, phase-dependent modulation was shown in 55% of motoneurons and, in 85% of them, the maximal amplitude occurred during the depolarized phase (Shefchyck et al. 1984). Finally, a recent study from the same group showed a phase-dependent modulation (>5%) in 65% of the motoneurons but, in only 35% of them, was the maximum EPSP occurring during the depolarized phase (Gosgnach et al. 2000).

The mechanisms of phase-dependency in monosynaptic transmission may be pre- or/and postsynaptic. There are indeed major postsynaptic mechanisms in motoneurons that can affect the output from these cells (e.g. Kiehn et al. 2000). During locomotion, there are cyclic changes in membrane excitability known as "locomotor-drive potential" or LDP which actively depolarize and hyperpolarize the membrane potential (Jordan 1983). Whether an EPSP reaches firing threshold will depend heavily on these postsynaptic changes in membrane potential. However, mostly based on input resistance measurements in the soma of motoneurons where most IA contacts are located, several previous reports concluded that LDP was not responsible for EPSP modulation. Firstly, no significant change in input resistance could be observed between the depolarized and hyperpolarized phases of the step cycle in 43/52 motoneurons examined during MLR-

fictive locomotion (Shefchyk and Jordan 1985). A recent report from the same group showed no significant phase-dependent change in the mean membrane resistance between the two locomotor phases in 22 motoneurons (Gosgnach et al. 2000). Secondly, when some membrane resistance changes were reported, they could not explain the specificity in phase-dependent EPSP modulation patterns evoked by different cutaneous pathways (Schmidt et al. 1988, 1989). In our study with spontaneous episodes of fictive locomotion, statistical analysis showed no significant difference in membrane input resistance between the active and inactive phases in motoneurons and we thus conclude, as these previous authors, that most of the modulation in monosynaptic transmission occurred at a presynaptic level.

Several studies indicate that there are CPG-related changes in presynaptic mechanisms (cf. Nusbaum et al. 1997). Fictive stepping is accompanied by small cyclic waves of membrane potential in numerous primary afferents usually peaking during the flexor phase (Baev and Kostyuk 1982; Dubuc et al. 1988; Gossard et al. 1989, 1991). The mechanism responsible for these waves remains unknown. The simplest explanation is a phasic action of the CPG on the excitability of GABAergic PAD interneurons. However, changes in ionic concentration (e.g.  $K^+$  accumulation) or activity in other transmitter systems have to be considered (Gossard 1996; Kremer and Lev-Tov 1998). In the diagram of Fig. 9, the influence of the CPG onto IA terminals is schematized by a direct grey arrow (1). The role of this CPG modulation, or what it represents, remains obscure (Shefchyk et al. 1984; Gosgnach et al. 2000). However, when the excitatory monosynaptic transmission is maximal during the depolarized phase in motoneurons, as suggested by our results, the feedback from muscle spindles firing during contractions (Prochazka et al. 1989) could assist the CPG in its recruitment.

## ***Sensory control of monosynaptic transmission during locomotion***

### *Action of muscle afferents*

Stimulation of muscle afferents from a bifunctional muscle, PBSt, could clearly reduce the monosynaptic transmission. In all motoneurons but one, it decreased the amplitude (by 21.3% on average) of the monosynaptic EPSP in at least one bin (3.2 bins on average). We interpret this reduction as being mostly due to the activation of pathways of presynaptic inhibition because: 1) the same PBSt stimuli was frequently shown before to evoke PADs in group IA afferents in the same type of preparation (Eccles et al. 1962a,b, 1963a,b; Schmidt 1971; Rudomin et al. 1983; Ménard et al. 1999; Rudomin and Schmidt 1999); 2) at the onset of the EPSP, there was no important membrane potential changes (see Fig. 1) and 3) there were no or small somatic conductance changes (4%) in half of the motoneurons induced by PBSt stimuli. According to Clements et al. (1987), the conductance must increase 10-fold to account for the decrease of amplitude IA-EPSP following a conditioning stimulus (see also Carlen et al. 1980; Lev-Tov et al. 1983; Segev 1990; McCrea et al. 1990). Our previous work showed that individual group I axon displayed individual pattern of PAD modulation (Ménard et al. 1999). When we stimulate electrically the peripheral nerve, as in the present study, all IAs are activated synchronously and the resulting EPSP modulation must depend on the summation of PAD patterns encountered in all the IA terminals (see Quevedo et al. 1997).

Even though the excitability of PAD pathways is modulated by the CPG, the

interaction of CPG and muscle afferent inputs onto the monosynaptic transmission does not appear to be a simple summation. If these two inputs were to converge on the same interneurons, then one would expect the CPG-related EPSP modulation to remain the same when PBSt stimulation is added. However, our results showed that PBSt stimuli could modify the moment (bin) of maximal EPSP in 9/14 motoneurons. This suggests that the effect of CPG is not entirely mediated through the PBSt-activated PAD interneurons. As mentioned above, it may be mediated through other mechanisms or via a different set of PAD interneurons not contacted by PBSt afferents. Indeed, there are numerous subsets of PAD interneurons described in anaesthetized cats which are activated by other sensory modalities and/or descending tracts from supraspinal structures (cf. Rudomin and Schmidt 1999; Leblond et al. 1999). Based on these considerations, the proposed circuitry schematically represented in Fig. 9 includes a short chain of PAD interneurons which is activated by muscle afferents (like PBSt) and driven by the output of the CPG. This last influence is represented by a grey arrow (2) from the CPG to the IA terminal. Note that there is also an independent direct influence of the CPG onto this terminal as mentioned above (arrow 1).

### *Interaction with cutaneous afferents*

A careful analysis of the effects of stimulating muscle and cutaneous afferents together revealed that cutaneous stimuli could further modify the monosynaptic EPSP in about half of the trials (21/40) and that this action appeared only in one or two bins. Such modifications were most frequently encountered with the stimulation of the SP nerve (73% of trials) and Saph nerve (55% of trials) as compared to CCS nerve (29% of trials). The SP

action was usually a removal of presynaptic inhibition of EPSP evoked by PBSt stimuli (Fig.8B). The action of Saph, however, was to further decrease the EPSP amplitude (Fig.8C). The removal of presynaptic inhibition may be mediated via an inhibitory interneurone acting on PAD pathways while its enhancement may be mediated via an excitatory interneurone as illustrated in Fig. 9. Another possibility is that cutaneous volleys induced, through its own circuit, presynaptic inhibition of PBSt terminals which, in turn, decreased the efficacy of our stimulation. However, previous work on this issue indicates that cutaneous input on its own is not a potent source to evoke PAD in muscle group I afferents (cf. Eccles et al. 1962a, 1963a) and usually requires a preceding activation of PAD pathways (Mendell 1972; Rudomin et al. 1974, 1983). Cutaneous volleys may then remove a level of PAD in most IAs (known as "primary afferent hyperpolarization" or PAH) and increase it in most IBs (Enriquez et al. 1996; Rudomin and Schmidt 1999). A first evaluation of this pattern using intra-axonal recordings during fictive locomotion has confirmed that a cutaneous stimulation has little effect on muscle group I afferents (Ménard et al. 1998). We thus conclude that the cutaneous volleys in our study did not alter importantly the transmission of the PBSt group I fibres that were stimulated.

The combined stimulation of muscle and cutaneous afferents also evoked small changes in membrane input resistance (5% on average) at the onset of the monosynaptic EPSP in 44% of motoneurons. These small postsynaptic resistance changes can not explain why different EPSP modifications can be obtained with different cutaneous nerves (e.g. SP vs Saph). Thus we believe that the effects of the combined volleys on the EPSP amplitude were mostly due to changes in presynaptic inhibition of IAs. Our results further showed that a cutaneous input was able to modify the level of presynaptic inhibition only during a very restricted, discrete, part of the step cycle. This may be explained by a strong



phasic modulation in the transmission of the cutaneous volleys. The proposed circuitry therefore must include a projection from the CPG to the interneurons activated by the cutaneous input, as illustrated in Fig. 9 by a 3<sup>rd</sup> grey arrow onto the inhibitory and excitatory interneurons activated by cutaneous fibres. Much speculative connectivity could be added to this diagram but it was purposely withdrawn for simplicity.

Some of our results are consistent with those of Lund et al. (1965) who reported that the monosynaptic EPSP in extensor motoneurons, which was presynaptically inhibited by PBSt stimuli, could regain its original size when preceded by the stimulation of the sural nerve. Subsequent experiments made in the anaesthetized cat showed that sural conditioning stimuli decreased the PAD evoked by PBSt in a majority of group IA afferents (Enriquez et al. 1996; also Ménard et al. 1998). Additionally, investigation of the soleus H reflex in humans reported that activation of the low threshold receptors of the skin of the distal foot reduced presynaptic inhibition of soleus IA afferents and even more efficiently during plantar flexion (Iles, 1996).

That cutaneous input can modify PAD in group I afferents in one or two bins along the step cycle suggests that sensory feedback from different skin areas during real movements could regulate punctually the gain of the monosynaptic transmission during locomotion. Recordings of afferent units in dorsal root ganglions in walking cats revealed that cutaneous receptors, because of stretching and folding of the skin, are firing at particular moments during the step cycle (cf. Loeb et al. 1977). Punctual, sudden removal, or enhancement, of presynaptic inhibition in muscle feedback is an efficient mechanism to raise the excitability of the entire motor pool. Such mechanism could be involved when

the skin of the paw suddenly encounters an obstacle or could be used for motoneuronal recruitment by the CPG. For example, when the paw makes contact with the ground, a removal of presynaptic inhibition in IAs by cutaneous volleys could boost the excitability of motor pools of extensor muscles involved in supporting the weight during the ensuing stance phase.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

---

This work was funded by a grant from the Canadian Institutes of Health Research. A. Ménard was supported by the Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC) and by the joint Fonds pour la formation de chercheurs et l'aide à la recherche du Québec and Fonds de la recherche en santé du Québec (FCAR-FRSQ). H. Leblond was supported by the FCAR. The authors would like to thank F.-J. Lapointe for assistance in statistical analysis and F. Lebel for technical support.

## REFERENCES

---

Akazawa K, Aldridge JW, Steeves JD, Stein RB (1982) Modulation of stretch reflexes during locomotion in the mesencephalic cat. *J Physiol* 329: 553-567

Baev KV, Kostyuk PG (1982) Polarization of primary afferent terminals of lumbosacral cord elicited by the activity of spinal locomotor generator. *Neurosci* 7:1401-1409

Brooke JD, Cheng J, Collins DF, McIlroy WE, Misiaszek JE, Staines WR (1997) Sensori-sensory afferent conditioning with leg movement: gain control in spinal reflex and ascending paths. *Prog Neurobiol* 51: 393-421

Brooke JD, Cheng J, Misiaszek JE, Lafferty K (1995) Amplitude modulation of the soleus H reflex in the human during active and passive stepping movements. *J Neurophysiol* 73: 102-111

Büschges A, El Manira A (1998) Sensory pathways and their modulation in the control of locomotion. *Cur Opi Neurobiol* 8:733-739

Carlen PL, Werman R, Yaari Y (1980) Post-synaptic conductance increase associated with presynaptic inhibition in cat lumbar motoneurons. *J Physiol* 298:539-556.

Clements JD, Forsythe ID, Redman S (1987) Presynaptic inhibition of synaptic potentials evoked in cat spinal motoneurons by impulses in single group Ia axons. *J Physiol* 383:153-169

Côté M-P, Gossard J-P (2000) Modulation of dorsal root potentials during fictive scratching in the cat. *Soc. Neurosci. Abst* 26: 460.3

Dietz V, Quintern J, Berger W (1985) Afferent control of human stance and gait: evidence for blocking of group I afferents during gait. *Exp Brain Res* 61:153-163

Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1988) Rhythmic fluctuations of dorsal root potentials and antidromic discharges of single primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 60: 2014-2036

Duenas SH, Rudomin P (1988) Excitability changes of ankle extensor group 1a and 1b fibers during fictive locomotion in the cat. *Exp Brain Res* 70: 15-25

Eccles JC, Eccles RM, Magni F (1961) Central inhibitory actions attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys. *J Physiol* 159:147-166

Eccles JC, Magni F, Willis WD (1962a) Depolarization of central terminals of group I afferent fibres from muscle. *J Physiol* 160:62-93

Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD (1962b) Presynaptic inhibition of the spinal monosynaptic reflex pathway. *J Physiol* 161: 282-297

Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD (1963a) Depolarization of central terminals of group Ib afferent of muscle. *J Neurophysiol* 26: 1-27

Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD (1963b) Depolarization of the central terminals of cutaneous afferent fibers. *J Neurophysiol* 26: 646-661

Enriquez M, Jiménez I, Rudomin P (1996) Segmental and supraspinal control of synaptic effectiveness of functionally identified muscle afferents in the cat. *Exp Brain Res* 107:391-404

Faist M, Dietz V, Pierrot-Deseilligny E (1996) Modulation, probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait. *Exp Brain Res* 109: 441-449

Fung J, Barbeau H (1994) Effects of conditioning cutaneomuscular stimulation on the

soleus H-reflex in normal and spastic paretic subjects during walking and standing. *J Neurophysiol* 72: 2090-2104

Gosgnach S, Quevedo J, Fedirchuck B, McCrea DA (2000) Depression of group Ia monosynaptic EPSPs in cat hindlimb motoneurons during fictive locomotion. *J Physiol* 526: 639-652

Gossard J-P (1996) The control of transmission in muscle group IA afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 76:4104-4112

Gossard J-P, Brownstone RM, Barajon I, Hultborn H (1994) Transmission in a locomotor-related group Ib pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. *Exp. Brain Res* 98: 213-228

Gossard J-P, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of dorsal root potentials evoked by peripheral nerve stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:1-13

Gossard J-P, Cabelguen JM, Rossignol S (1989) Intra-axonal recordings of cutaneous primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 62: 1177-1188

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of primary afferent depolarization in single cutaneous primary afferents evoked by peripheral stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res* 537:14-23

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1991) An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 65: 914-926

Iles JF (1996) Evidence for cutaneous and corticospinal modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents from the human lower limb. *J Physiol* 491.1:197-207

Jiménez I, Rudomin P, Solodkin M (1988) PAD patterns of physiologically identified fibres from the medial gastrocnemius muscle. *Exp Brain Res* 71:643-657

Jordan LM (1983) Factors determining motoneuron rhythmicity during fictive locomotion. *Neural origin of rhythmic movements (symposia of the society for experimental biology)*. Cambridge university press, Cambridge, pp 423-444

Kiehn O, Kjaerulff O, Tresch MC, Harris-Warrick RM (2000) Contributions of intrinsic motor neuron properties to the production of rhythmic motor output in the mammalian spinal cord. *Brain Res Bull* 53:649-59



Kremer E, Lev-Tov A (1998) GABA-receptor-independent dorsal root afferents depolarization in the neonatal rat spinal cord. *J Neurophysiol* 79:2581-92

Leblond H, Ménard A, Gossard J-P (1999) Modulation of dorsal root potentials evoked by supraspinal stimulation during fictive locomotion in the cat. *Soc. Neurosci. Abstr* 25: 49.6

Leblond H, Ménard A, Gossard J-P (2000) Bulbospinal control of spinal cord pathways generating locomotor extensor activities in the cat. *J Physiol (Lond)* 525:225-240

Lev-Tov A, Miller JP, Burke RE, Rall W (1983) Factors that control amplitude of EPSPs in dendritic neurons. *J Neurophysiol* 50: 399-412

Loeb GE, Bak MJ, Duysens J (1977) Long-term unit recording from somatosensory neurons in the spinal ganglia of the freely walking cat. *Science* 197:1192-1194

Lund S, Lundberg A, Vyklicky L (1965) Inhibitory action from the flexor reflex afferents on transmission to Ia afferents. *Acta Physiol Scand* 64:345-355

McCrea DA (2001) Spinal circuitry of sensorimotor control of locomotion. *J Physiol* 533: 41-50

McCrea DA, Shefchyck SJ, Carlen PL (1990) Large reductions in composite monosynaptic EPSP amplitude following conditioning stimulation are not accounted for by increased postsynaptic conductances in motoneurons. *Neurosci Lett* 109:117-122

McCrea DA, Shefchyck S J, Stephens M J, Pearson KG (1995) Disynaptic group I excitation of synergist ankle extensor motoneurons during fictive locomotion in the cat. *J Physiol (Lond)* 487: 527-539

Ménard A, Leblond H, Gossard J-P (1998) Effects of cutaneous input on the modulation of primary afferent depolarization in muscle group I fibres during fictive locomotion in the cat. *Soc Neurosci Abstr* 24:1414: #558.5

Ménard A, Leblond H, Gossard J-P (1999) The modulation of presynaptic inhibition in single muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurosci* 19:391-400

Mendell L (1972) Properties and distribution of peripherally evoked presynaptic hyperpolarization in cat lumbar spinal cord. *J Physiol* 226: 769-792

Mendell LM, Henneman E (1971) Terminals of single Ia fibers: location, density and distribution

within a pool of 300 homonymous motoneurons. *J Neurophysiol* 34: 171-187

Misiaszek JE, Brooke JD, Lafferty KB, Cheng J, Staines WR (1995) Long-lasting inhibition on the human soleus H reflex pathway after passive movement. *Brain Res* 677: 69-81

Morin C, Pierrot-Deseilligny E, Hultborn H (1984) Evidence for presynaptic inhibition of muscle spindle Ia afferents in man. *Neurosci Lett* 44:137-142

Nicoll RA, Alger BE (1979) Presynaptic inhibition: transmitter and ionic mechanisms. *Int Rev Neurobiol* 21: 217-258

Nusbaum MP, El Manira A, Gossard J-P, Rossignol S (1997) Presynaptic mechanisms during rhythmic activity in vertebrates and invertebrates. In: Stein PSG, Grillner S, Selverston AI, Stuart DG (eds) *Neurons, networks, and motor behavior*. MIT Press, Cambridge, MA, pp 237-253

Pearson KG (1995) Proprioceptive regulation of locomotion. *Cur Opin Neurobiol* 5: 786-791

Perreault MC, Shefchyk SJ, Jimenez I, McCrea DA (1999) Depression of muscle and cutaneous afferent-evoked monosynaptic field potentials during fictive locomotion in the cat. *J Physiol* 521:691-703

Prochazka A, Trend P, Hulliger M, Vincent S (1989) Ensemble proprioceptive activity in the cat step cycle: towards a representative look-up chart. In: Allum JHJ, Hulliger M (eds) Progress in brain research. Elsevier, Amsterdam, pp 61-74

Quevedo J, Equibar JR, Lomeli J, Rudomin P (1997) Patterns of connectivity of spinal interneurons with single muscle afferents. Exp Brain Res 115:387-402

Rossignol S (1996) Neural control of stereotypic limb movements. In: Handbook of physiology, Exercise: Regulation and integration of multiple systems, sect.12, Am Physiol Soc, Bethesda MD, pp 173-216

Rudomin P, Jimenez I, Solodkin M, Duenas S (1983) Sites of action of segmental and descending control of transmission on pathways mediating PAD of IA and IB afferent fibers in cat spinal cord. J Neurophysiol 50:743-769

Rudomin P, Numez R, Madrid J, Burke RE (1974) Primary afferent hyperpolarization and presynaptic facilitation of IA afferent terminals induced by large cutaneous fibers. J Neurophysiol 37:413-429

Rudomin P, Schmidt RF (1999) Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. Exp Brain Res 129:1-37

Rudomin P, Solodkin M, Jiménez I (1986) PAD and PAH response patterns of group IA- and Ib fibers to cutaneous and descending inputs in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 56:987-1006

Schmidt BJ, Meyers DER, Fleshman JW, Tokuriki M, Burke RE (1988) Phasic modulation of short latency cutaneous excitation in flexor digitorum longus motoneurons during fictive locomotion. *Exp Brain Res* 71: 568-578

Schmidt BJ, Meyers DER, Tokuriki M, Burke RE (1989) Modulation of short latency cutaneous excitation in flexor and extensor motoneurons during fictive locomotion in the cat. *Exp Brain Res* 77: 57-68

Schmidt RF (1971) Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. *Ergebn Physiol* 63:20-101

Schomburg ED, Behrends HB (1978) The possibility of phase-dependent monosynaptic and polysynaptic Ia excitation to homonymous motoneurons during fictive locomotion. *Brain Res* 143: 533-537

Segev I (1990) Computer study of presynaptic inhibition controlling the spread of action potentials into axonal terminals. *J Neurophysiol* 63:987-998

Shefchyk SJ, Jordan LM (1985) Motoneuron input-resistance changes during fictive locomotion produced by stimulation of the mesencephalic locomotor region. *J Neurophysiol* 54: 1101-1108

Shefchyk SJ, Stein RB, Jordan LM (1984) Synaptic transmission from muscle afferents during fictive locomotion in the mesencephalic cat. *J Neurophysiol* 51: 986-997

Simonsen EB, Dyhre-Poulsen P (1999) Amplitude of the human soleus H reflex during walking and running. *J Physiol* 515: 929-939

Sinkjaer T, Andersen JB, Ladouceur M, Christensen LOD, Nielsen J (2000) Major role for sensory feedback in soleus EMG activity in the stance phase of walking in man. *J Physiol* 523:817-827

Sinkjaer T, Andersen JB, Larsen B (1996) Soleus stretch reflex modulation during gait in humans. *J Neurophysiol* 76:1112-1120

Stein RB, Capaday C (1988) The modulation of human reflexes during functional motor tasks. *TINS* 11:328-332

Willis WD, Numez R, Rudomin P (1976) Excitability changes of terminal arborizations of single IA and IB afferent fibers produced by muscle and cutaneous conditioning volleys.

J Neurophysiol 39:1150-1159

Yang JF, Whelan PJ (1993) Neural mechanisms that contribute to cyclical modulation of the soleus H-reflex in walking in humans. Exp Brain Res 95:547-556

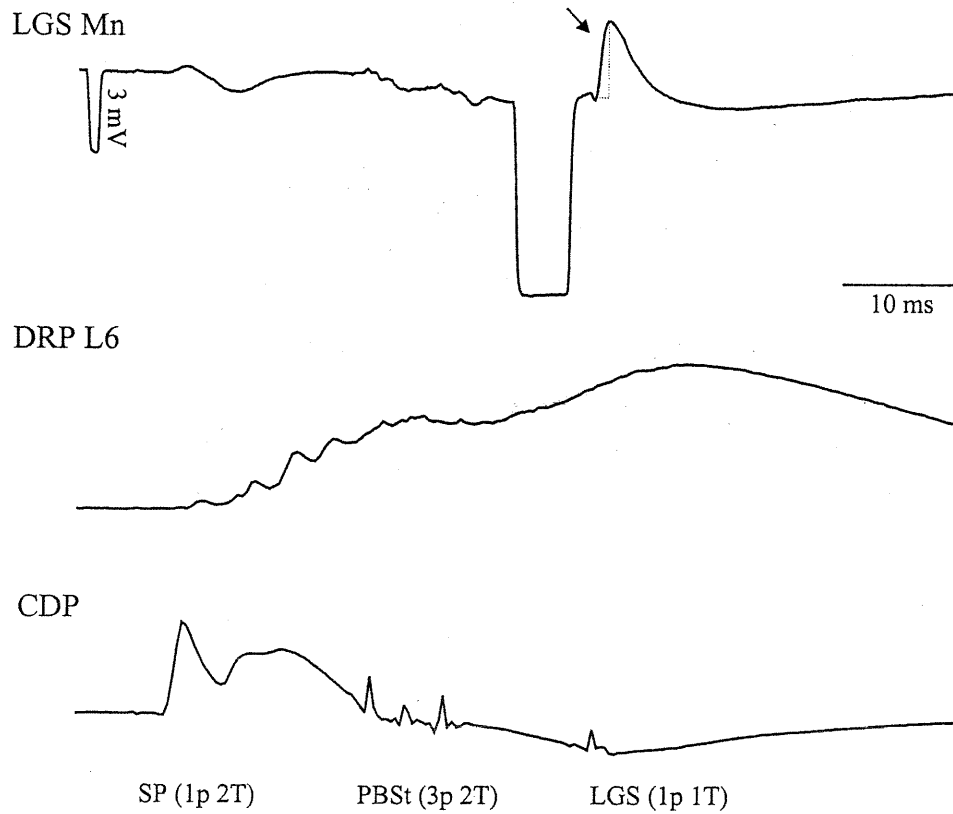
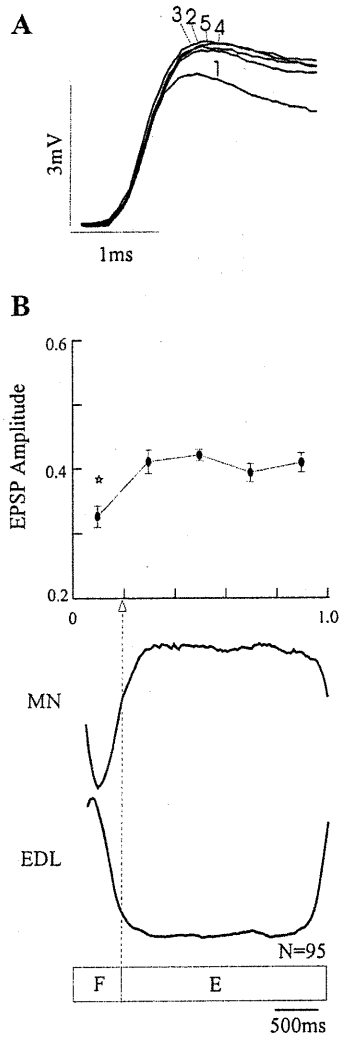
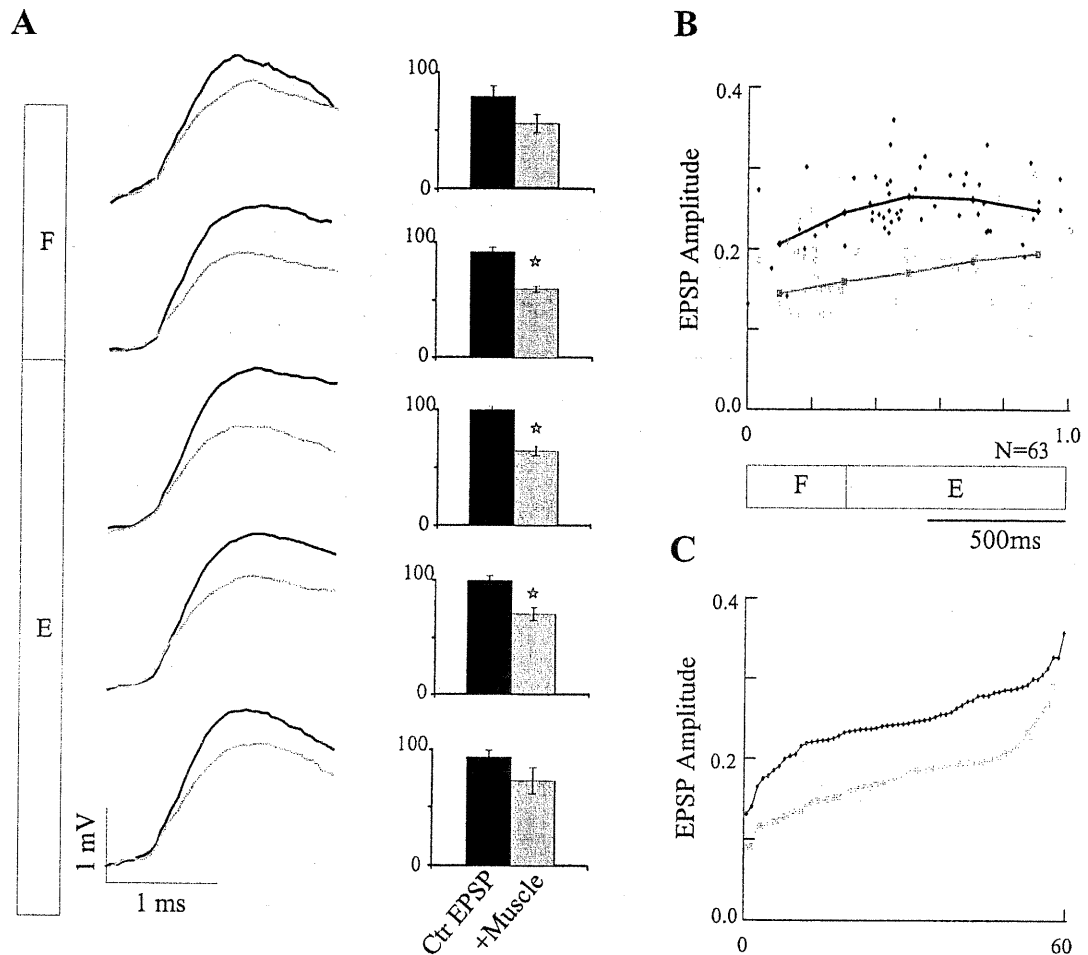


Figure 1. Raw recordings of responses exemplifying the stimulation protocol. From top to bottom: intracellular recording of a LGS motoneurone and the recordings of a dorsal root potential (DRP) and of the cord dorsum potential (CDP). In all three traces are responses to the following nerve stimulation: caudal cutaneous sural nerve (CCS, 1 pulse, 2T) followed 20 ms later by posterior biceps-semi-tendinosus (PBSt, 3 pulses, 2T, 300Hz) followed 20 ms later by lateral gastrocnemius-soleus (1 pulse, 1T). Just before the LGS stimulus, there is an injection through the micropipette of a current pulse (5ms, 3nA) to test changes in motoneuronal membrane conductance. The measured area of the monosynaptic EPSP (arrow) is indicated by a shaded area.

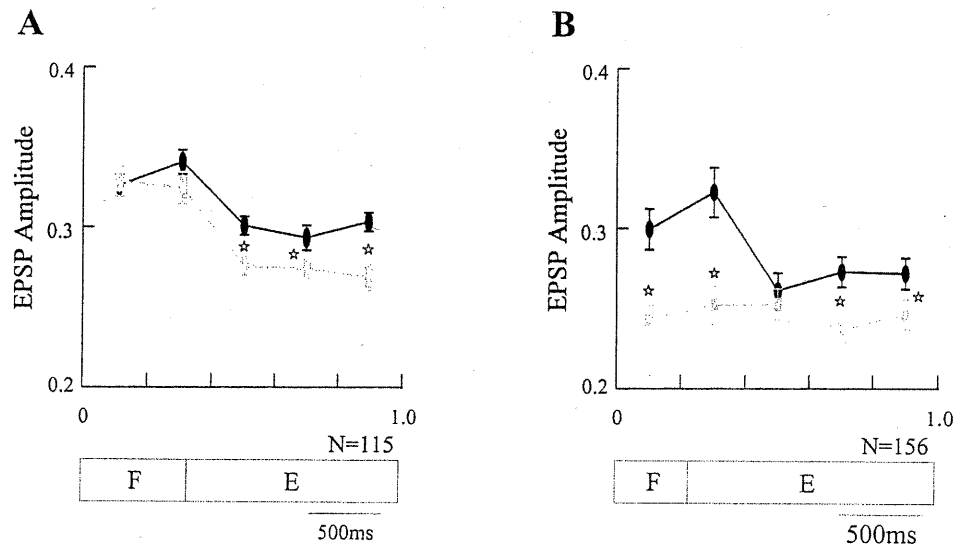




*Figure 2.* Modulation of the amplitude of the monosynaptic EPSP in a PI motoneurone during spontaneous fictive stepping. *A*, Superimposition of the averaged EPSP evoked by stimulation of PI (1p 1T, in black) in each of the 5 bins dividing the fictive step cycle (tagged 1 to 5). *B*, Phase plot of the integrated EPSP amplitude (with SEMs). The star over the first value (1<sup>st</sup> bin) indicates that the amplitude of EPSPs was statistical different ( $p < 0.05$ ) from the maximal EPSP amplitude (3<sup>rd</sup> bin). Under the graph are the averaged locomotor-drive potential in the PI motoneurone (Mn) and the averaged rectified ENG activity of EDL. The F and E boxes at the bottom delineate the flexor phases and extensor phases of the step cycle respectively.



**Figure 3.** Action of muscle afferent input on the amplitude of monosynaptic EPSP in a PI motoneurone during spontaneous fictive stepping. *A, left:* For each of the 5 bins dividing the fictive step cycle, the averaged “control” EPSP evoked by stimulation of PI alone (1p 1T, in black) is superimposed on the EPSP preceded by PBSt stimuli (3p 2T 300 Hz, in dark grey); *right:* Histograms of the EPSP amplitude expressed as percentage of the maximal control EPSP. *B,* Phase plot of the integrated EPSP amplitude. Stars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between control and conditioned EPSPs. *N* is the number of cycles in that episode of stepping. *C,* Integrated EPSP amplitude over time.



*Figure 4.* Action of muscle afferent input on the CPG-related modulation of monosynaptic EPSP observed during spontaneous fictive locomotion. *A*, Phase plots of the averaged control EPSP evoked by stimulation of EDL alone (1p 1T, in black) and of the EPSP preceded by PBSt stimuli (3p 2T 300 Hz, in dark grey) recorded in a TA motoneuron. *B*, Phase plots of the averaged control EPSP evoked by stimulation of LGS alone (1p 1T, in black) and of the EPSP preceded by PBSt stimuli (3p 2T 300 Hz, in dark grey) recorded in a LGS motoneuron. Stars indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between control and conditioned EPSPs.

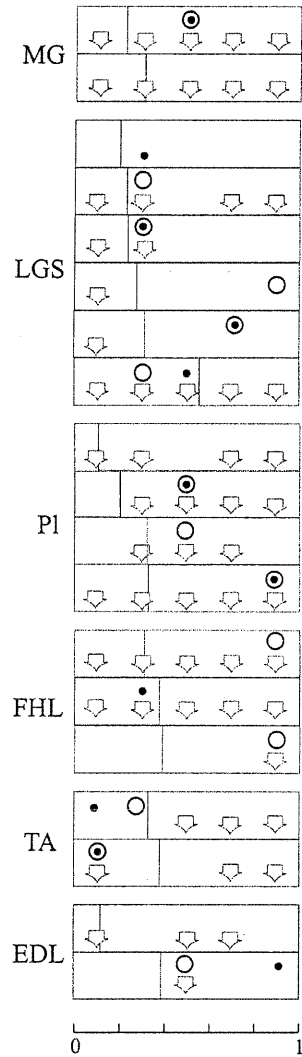
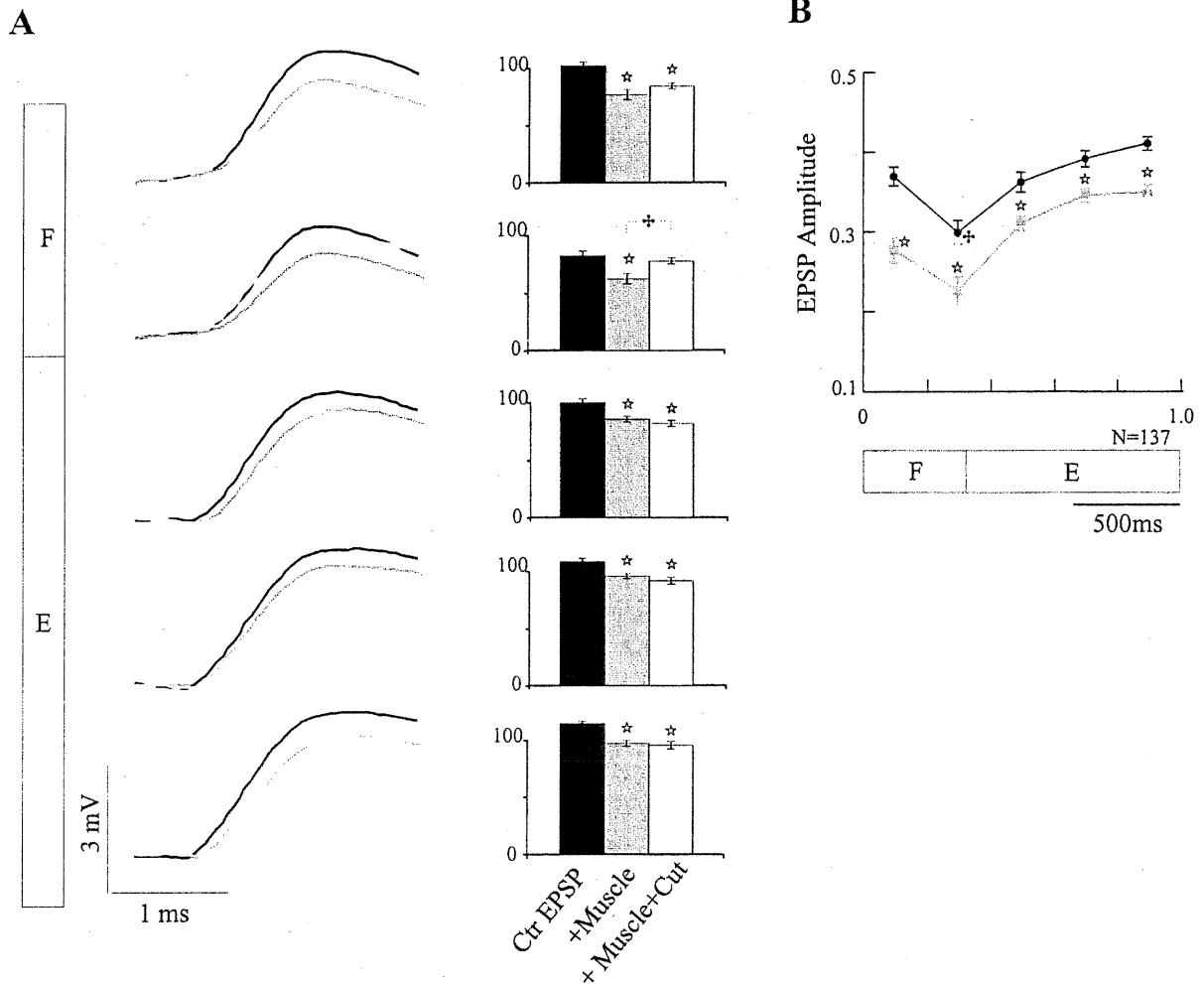
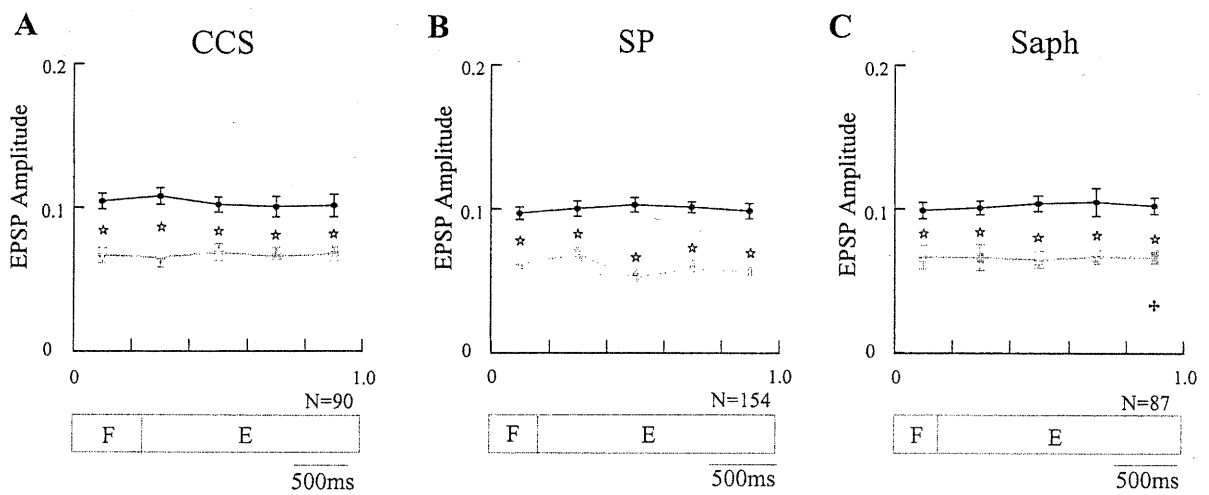


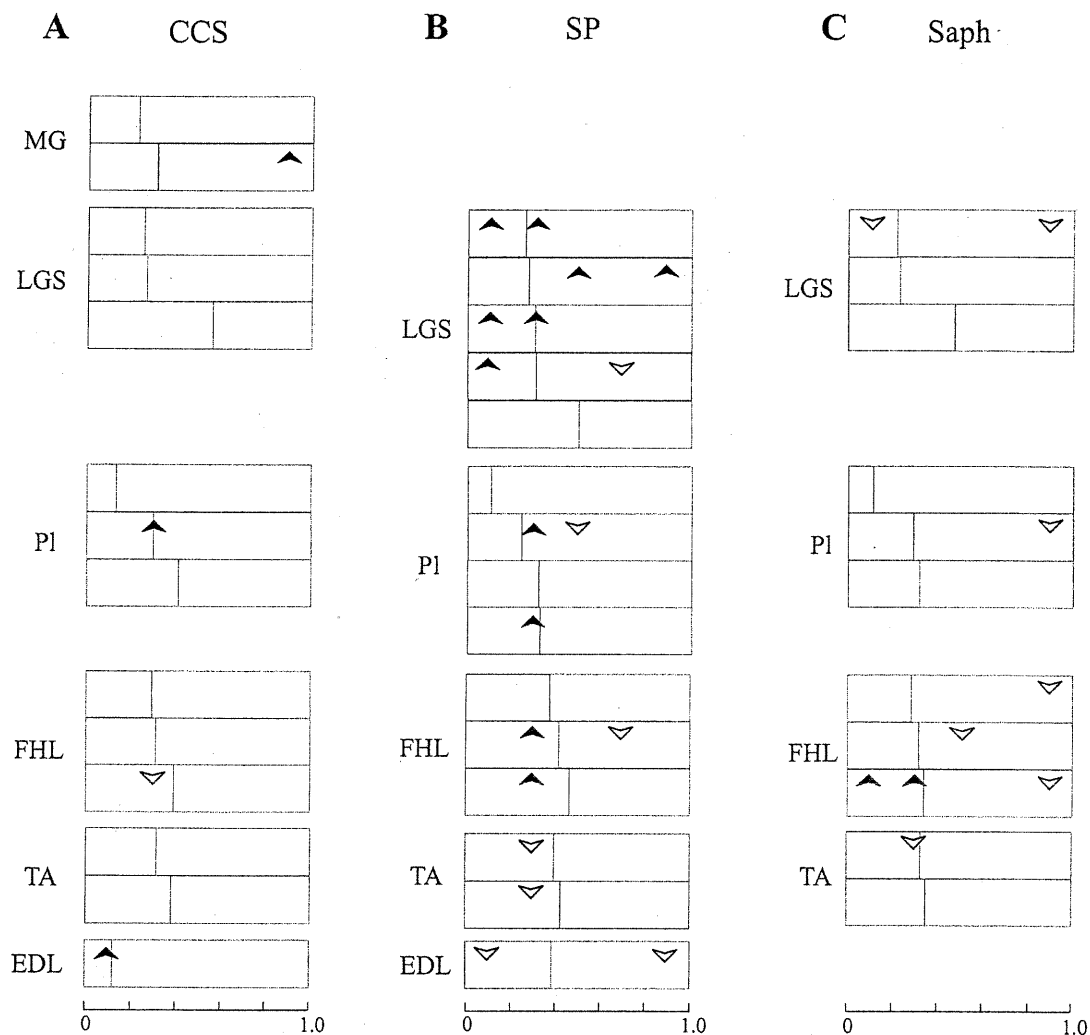
Figure 5. Compilation of all motoneurons showing a significant change in EPSP amplitude in response to PBSt conditioning. Each box corresponds to a phase plot obtained from a motoneurone. Trials are assorted according to the motoneuronal identity as indicated by the abbreviations on the left. For each trial, the flexor phase is represented by a grey box and the extensor phase by a white box. Bins showing significant decreases in the amplitude of EPSP due to the stimulation of muscle afferents are marked by downward arrows. The bin where the maximal EPSP amplitude occurred, before and following PBSt conditioning, are indicated by an open circle and black dot respectively. If the maximal EPSP amplitude occurred in the same bin before and after the conditioning, the dot is superimposed on the circle.



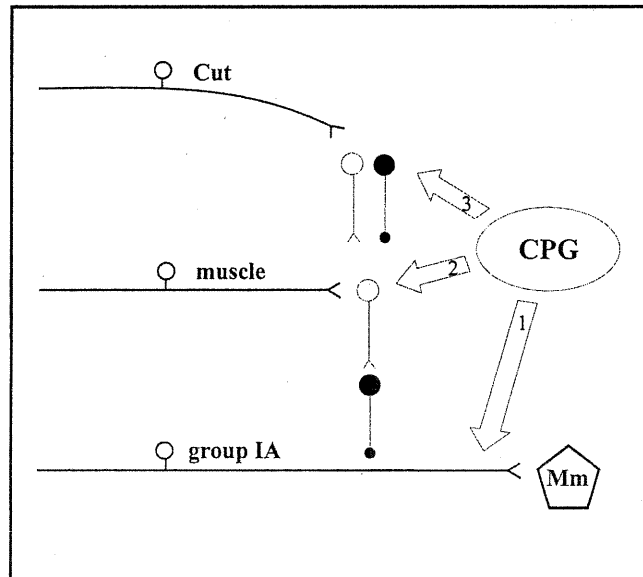
*Figure 6.* The effects of combining cutaneous and muscle afferents on the amplitude of monosynaptic EPSP in a PI motoneurone during spontaneous fictive stepping. *A, left:* For each of the 5 bins dividing the fictive step cycle, the averaged control EPSP evoked by stimulation of PI alone (1p 1T, in black) is superimposed on 1) the EPSP preceded by PBSt (3p 2T 300 Hz, in dark grey) and 2) on the EPSP preceded by both PBSt and SP (1p 2T) stimuli (in light grey). *Right:* Histograms of the EPSP amplitude expressed as percentage of the maximal control EPSP. *B,* phase plots of the EPSP in the three conditions (with corresponding colours). Stars indicate statistical differences ( $p < 0.05$ ) between EPSPs and EPSPs preceded by PBSt stimuli (as in Fig. 3). The cross (2<sup>nd</sup> bin) indicates a statistical difference ( $p < 0.05$ ) between EPSPs preceded by muscle stimuli and EPSPs preceded by the combined muscle and cutaneous stimuli.



*Figure 7.* Phase plots of EPSP amplitude comparing the effects of three different cutaneous nerves coupled with PBSt stimuli (A: CCS, B: SP and C: Saph) during spontaneous fictive locomotion in a the same FHL motoneurone. The outline is the same as in Fig. 6B. Curves in black are constructed from the amplitude of control EPSPs evoked by FDHL alone (1p 1T), curves in dark grey from EPSPs preceded by PBSt stimuli (3p 2T 300 Hz) and curves in light grey from EPSPs preceded by the additional cutaneous stimulus (1p 2T). Stars and the cross indicate statistical difference as described in Fig. 6B.



*Figure 8.* Compilation of all trials in which we compare the effects on the EPSP amplitude of stimulating muscle afferents and stimulating muscle and cutaneous afferents together. Each box corresponds to a phase plot obtained from a trial in a motoneuron. Trials are assorted according to the cutaneous nerve being stimulated (A: CCS, B: SP and C: Saph) and according to the motoneuronal identity as indicated by the abbreviations on the left. For each trial, the flexor phase is represented by a grey box and the extensor phase by a white box. Significant decreases in the amplitude of EPSP already conditioned by PBSt due to the additional cutaneous stimulus are represented by white downward arrowheads and increases by black upward arrowheads.



*Figure 9.* Schematic diagram illustrating the putative circuitry connecting the CPG to PAD interneurons contacting IA afferents. The first grey arrow (1) represents the direct influence of the CPG, through an unknown mechanism, onto the IA axon. The group IA afferent terminal projecting directly to the motoneuron (Mn) is contacted by an axo-axonic synapse from a short chain composed of two PAD interneurons mediating presynaptic inhibition. This PAD pathway is activated by sensory volleys from muscle afferents (e.g. PBSt) and its transmission is modulated by the CPG as illustrated by the second grey arrow (2). Interneurons activated by sensory volleys in cutaneous afferents are excitatory and inhibitory and both are under the influence of the CPG. This allows the cutaneous input to modify phasically the presynaptic inhibition evoked by muscle afferents.



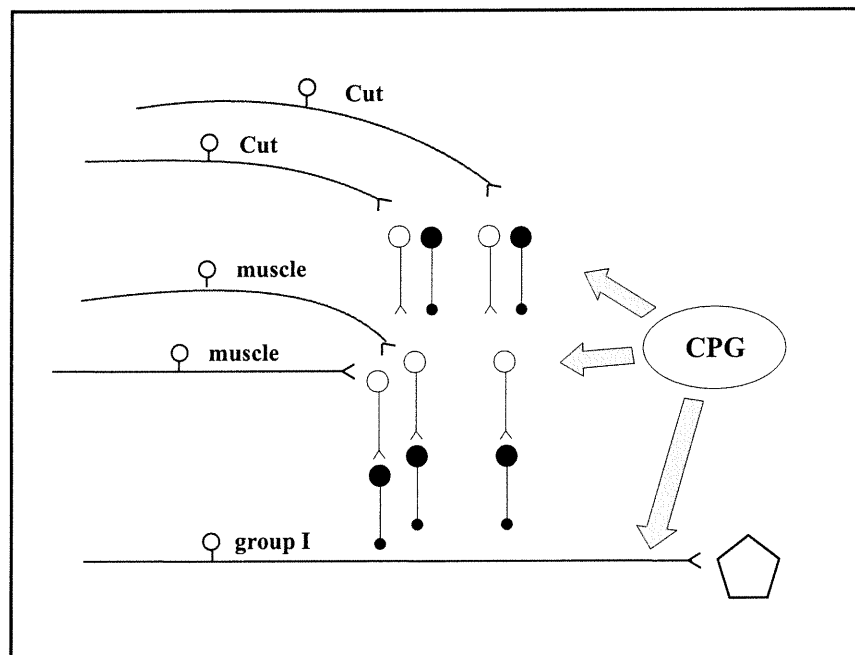
## **DISCUSSION GÉNÉRALE**

## 1. RÉCAPITULATION DES RÉSULTATS

Les résultats du premier projet ont d'abord montré que l'amplitude des PADs, évoquées dans les afférences de groupe I de divers muscles par un input sensoriel musculaire, est modulée selon les phases du cycle locomoteur fictif. La similitude des résultats obtenus chez les chats décérébrés et chez les chats spinaux nous indique que les mécanismes responsables se situeraient au niveau segmentaire. Nous suggérons que l'excitabilité des interneurons des circuits responsables de l'inhibition présynaptique est modulée par le CPG (voir Figure 6). Nous présumons que, grâce à cette modulation d'inhibition présynaptique, la transmission des informations proprioceptives des afférences musculaires pourrait être ajustée selon les phases du cycle de marche.

La contribution du CPG à la modulation de l'excitabilité des interneurons des PADs serait majeure chez le chat décérébré et spinaux ce qui n'exclue pas pour autant la présence d'une influence tonique ou rythmique des structures supraspinales sur ces interneurons. En effet, certaines études ont révélé une activité rythmique des neurones réticulospinaux (Perreault et al. 1993) et rubrospinaux (Arshavsky et al. 1988) lors de la locomotion fictive. Ceci suggère que la formation réticulée et le noyau rouge intacts chez le chat décérébré pourraient avoir un effet phasique sur les voies des PADs. Ainsi, des études plus exhaustives seraient nécessaires dans un plus grand nombre d'animaux pour comparer de façon systématique les différences qui pourraient être attribuées à la présence ou à l'absence de structures supraspinales.

Par ailleurs, il a été étonnant de constater qu'on ne retrouve pas de tendance simple parmi les nombreux patrons de modulation obtenus dans les diverses afférences musculaires contrairement au patron unique de modulation des PADs précédemment décrit dans les afférences cutanées (Gossard et al. 1990) et au patron unique retrouvé pour les DRPs (Gossard et Rossignol 1990). En fait, les patrons de modulation observés diffèrent pour des afférences provenant d'un même muscle et selon les nerfs musculaires stimulés. Ces données suggèrent donc que les interneurons des PADs sont divisés en sous-populations par le CPG qui pourrait alors moduler leur transmission de façon sélective. A prime abord, nous supposons que les informations précises si soigneusement codées par les récepteurs sensoriels seraient filtrées de façon différentielle étant donnée leur convergence sur certains interneurons. Ce fut d'ailleurs la première conclusion tirée des travaux effectués chez le chat anesthésié par le groupe de Rudomin qui attribuait un patron de PADs qui était propre aux afférences de type IA ou IB (Rudomin et al. 1983, 1986; Rudomin et Schmidt 1999). Néanmoins, les études subséquentes de ce même groupe ont plutôt démontré que les deux types d'afférences pouvaient partager le même patron de réponse et qu'ils ne pouvaient donc plus être distingués d'après ces critères (Enriquez et al. 1996). Dans la présente étude, les patrons de modulation des PADs ne se regroupent pas non plus en deux grandes familles qui pourraient correspondre aux fibres de groupe IA et IB. Cependant, un échantillon d'afférences identifiées plus important serait nécessaire pour tirer une conclusion définitive. Néanmoins, ces résultats portent à croire qu'il est peut-être erroné, lors de la locomotion, de vouloir classer les patrons de modulation des PADs selon l'identité périphérique des axones (muscle, diamètre, adaptation, vitesse de conduction, fléchisseur, extenseur, proximal, distal, récepteur périphérique) mais qu'il serait plutôt approprié de les classer selon leurs cibles postsynaptiques.



**Figure 6:** Diagramme illustrant la division des interneurones des PADs en sous-populations en fonction de leurs sources d'activation. Les afférences musculaires de groupe I projetant à une cible post-synaptique donnée sont contactées par les interneurones des PADs produisant l'inhibition présynaptique. Différentes sous-populations sont activées par différentes sources d'inputs musculaires ou cutanés et sont modulées par le CPG. Certaines reçoivent une convergence d'inputs musculaires, cutanés (excitateur ou inhibiteur) et du CPG. Le CPG seul peut produire une action sur l'afférence musculaire comme l'indique la flèche grise par un mécanisme non défini.

Les résultats du deuxième projet ont ensuite montré que l'amplitude des réponses évoquées par les inputs cutanés dans les afférences musculaires de groupe I est en général beaucoup plus faible mais aussi modulée selon les phases du cycle locomoteur fictif. À nouveau, il ne semble pas y avoir de patron de modulation unique. De plus, les patrons de modulation phasique des réponses évoquées par les inputs musculaires d'une part et évoquées par les inputs cutanés d'autre part ne correspondent pas. Ceci nous suggère que ces deux inputs peuvent être transmis par des sous-populations d'interneurones distincts dont l'excitabilité serait contrôlée de manière distincte par le CPG. D'autre part, nous avons observé que l'amplitude des PADs évoquées par une source musculaire est modifiée par un input cutané dans la majorité des afférences musculaires de groupe I et que cette combinaison ne résulte pas simplement d'une sommation linéaire des actions individuelles (addition ou soustraction). Cette interaction nous suggère qu'il y a donc aussi une convergence de ces inputs sur des voies interneuronales des PADs communes. En bref, les réponses cutanées, en plus d'être transmises de façon indépendante aux terminaisons axonales, seraient aussi transmises via les mêmes interneurones que ceux activés par la stimulation musculaire. À partir d'observations indirectes, la convergence des inputs cutanés est souvent décrite comme une couche supplémentaire d'interneurones excitateurs (lorsqu'ils augmentent la PAD) et inhibiteurs (lorsqu'ils la diminuent) se projetant sur le premier interneurone (de premier-ordre) composant les voies de PADs (Rudomin et al. 1983, 1986; Rudomin et Schmidt 1999).

L'interaction la plus commune entre ces deux sources fut une diminution de l'amplitude des PADs produites par les inputs musculaires évoquée par l'input cutané. Celle-ci peut s'observer, selon l'afférence enregistrée, dans une, plusieurs ou toutes les portions du cycle locomoteur, ce qui suppose une possibilité de modulation phasique

précise (temporellement) de l'inhibition présynaptique d'origine cutanée. Par contre, dans une bonne proportion des cas, cette action inhibitrice s'observe dans toutes les portions du cycle locomoteur et un tel effet ne change pas ou peu le patron de modulation des PADs évoquées par l'input musculaire. Une simplification consisterait à dire que l'excitabilité d'une bonne proportion d'interneurones activés par les inputs cutanés serait modulée de façon tonique, plutôt que phasique, par le CPG.

Afin de savoir si divers territoires cutanés agissent de manière spécifique, nous avons comparé les effets de trois nerfs cutanés sur les PADs enregistrées dans les afférences musculaires de groupe I. Ces données révèlent que les effets obtenus par la stimulation du peronier superficiel (SP) sont plus importants, présents dans un plus grand nombre d'axones et plus souvent soutenus tout au long du cycle locomoteur, que les autres sources cutanées (sural caudal et saphène). Une tendance notable est que l'effet dominant de SP est l'enlèvement de l'inhibition présynaptique générée par la rétroaction musculaire ce qui, à son tour, facilite la transmission dans les voies proprioceptives. Cette tendance suggère que différents territoires cutanés, qui peuvent être activés au cours du mouvement normal mais aussi lors de perturbations, pourraient jouer des rôles distincts sur l'inhibition présynaptique et ainsi réguler différemment la transmission des afférences musculaires de groupe I dans les voies réflexes aux motoneurones.

Comment ces divers patrons de modulation d'inhibition présynaptique, enregistrés dans les axones de groupe I, se traduisent-ils pour la transmission sensorielle? L'impact des systèmes de contrôle segmentaire et multisensoriel sur la transmission synaptique a été testé, lors de notre troisième projet, au niveau le plus simple i.e. sur la transmission monosynaptique aux motoneurones. Nous avons d'abord noté que l'amplitude des EPSPs

était modulée de façon phasique lors de la locomotion fictive, avec un maximum survenant lors de la phase active, sans changements importants de conductance membranaire postsynaptique. Ceci indique que le CPG à lui seul arrive à moduler la transmission des terminaisons IA sans stimulations sensorielles préalables. L'activation des voies des PADs par un input musculaire diminue significativement l'amplitude des EPSPs et peut le faire sur les deux tiers du cycle locomoteur. La rétroaction musculaire pourrait donc, grâce à l'inhibition présynaptique phasique, diminuer le gain de transmission dans la boucle du réflexe d'étirement. L'action des inputs musculaires n'apparaît pas être simplement une soustraction de l'action du CPG tout au long du cycle locomoteur. Ceci suggère que ces deux inputs ne sont pas tous transmis par une seule voie commune. Notre première étude a montré que les interneurones des PADs activés par la rétroaction musculaire sont sous le contrôle du CPG mais cette dernière étude suggère que le CPG a aussi une voie indépendante pour influencer la transmission monosynaptique. La nature de cette dernière voie reste incertaine.

En concordance avec notre deuxième étude portant sur les PADs, il a été montré que l'inhibition présynaptique de l'EPSP monosynaptique peut être renforcée ou diminuée par un input cutané mais seulement dans certaines portions du cycle locomoteur. L'étude comparative de trois sources cutanées nous révèle de plus que ces modifications sont plus fréquentes avec la stimulation du nerf SP. Il produit surtout une réduction de l'inhibition, ce qui corrobore les observations des PADs faites dans les afférences primaires musculaires. Le fait que ces modifications ne surviennent que dans des portions très restreintes du cycle locomoteur suggère que le CPG exerce une modulation phasique précise de l'excitabilité des interneurones activés par la rétroaction cutanée qui projettent sur les voies des PADs.

Par contre, nos précédentes mesures de PADs (deuxième étude) n'indiquent pas une modulation si précise de l'action cutanée. Comme mentionné précédemment, l'input cutané peut en effet modifier l'amplitude de la PAD dans une seule portion du cycle mais la tendance générale était plutôt d'avoir une action sur une grande portion du cycle locomoteur. Cette différence peut s'expliquer par le fait que les PADs enregistrées au niveau des axones dans les colonnes dorsales ne représentent pas seulement les PADs des terminaisons axonales se projetant sur le motoneurone enregistré, mais l'ensemble des terminaisons. Encore une fois, l'explication la plus plausible est l'existence d'un système d'inhibition présynaptique organisé selon les cibles contactées par les afférences et c'est ce dont nous traiterons dans la prochaine section.



## 2. SÉLECTIVITÉ DE L'INHIBITION PRÉSYPNAPTIQUE

Il y a une centaine d'années, Ramon y Cajal fit la description anatomique que les afférences des nerfs spinaux bifurquent de façon horizontale à partir des colonnes dorsales en autant de collatérales qui se terminent dans la matière grise (Brazier 1988). Cette découverte imposa une reconsidération de la fonction de la moelle épinière alors en vigueur et suggérait que les informations sensorielles soient propagées dans ces diverses routes vers différents neurones spinaux. De nos jours, certains travaux indiquent que cette propagation de l'information sensorielle ne se fait pas de façon obligatoire dans toutes ces routes. En fait, le système de collatérales serait plutôt un système dynamique modelé par des mécanismes centraux, tel que l'inhibition présynaptique, qui convoierait les informations sensorielles de façon sélective à des cibles neurales spécifiques selon les tâches de contrôle moteur (Kolta et al. 1995; Westberg et al. 2000) ou de discrimination sensorielle du moment. Tirant profit d'une telle organisation anatomique, ces mécanismes de sélection pourraient augmenter grandement le pouvoir de computation du système nerveux. Il semble que deux moyens puissent être mis en oeuvre pour utiliser tout le potentiel de l'organisation des collatérales soit l'inhibition présynaptique à chacune des terminaisons ou au niveau des embranchements (Wall 1994, 1995)

Chez l'humain, l'utilisation de méthodes non-invasives estimant les changements d'inhibition présynaptique a permis de mettre en évidence l'existence d'un tel mécanisme pour la sélection de la transmission des afférences IAs contactant les motoneurones lors d'une flexion plantaire volontaire isolée de la cheville (Hultborn et al. 1987). Dans cette étude, pour déterminer l'inhibition présynaptique des afférences IA homonymes, on mesura l'inhibition du réflexe H (du muscle soléaire ou quadriceps) évoquée par la

vibration du tendon du muscle tibial antérieur (TA), tandis que pour déterminer l'inhibition présynaptique des afférences hétéronymes, on mesura la facilitation du réflexe H du soléaire produit par l'activation des afférences IAs du quadriceps qui contactent les motoneurones du soléaire (facilitation hétéronyme). Ces auteurs ont montré qu'au début de la contraction volontaire du soléaire: 1) il y a une facilitation hétéronyme accrue entre le quadriceps et le soléaire indiquant une diminution de l'inhibition présynaptique des afférences IAs du quadriceps faisant contact avec les motoneurones du soléaire (utile à la tâche); 2) il y a diminution de l'inhibition présynaptique du TA vibré sur les IAs du soléaire et 3) une augmentation de l'inhibition présynaptique des IAs du quadriceps sur ces propres motoneurones évoquée par la vibration du TA. Ainsi, les terminaisons de deux collatérales des IAs du quadriceps seraient modulées de façon différentielle selon qu'elles atteignent une cible motoneuronale impliquée ou non dans l'action motrice. Ces données suggèrent que des influences d'origine supraspinale seraient la source de la diminution de l'inhibition présynaptique des afférences qui contribuent à l'excitation des motoneurones impliqués dans le mouvement volontaire et de l'augmentation de l'inhibition présynaptique des afférences non-pertinentes à la tâche motrice. Nous pensons que la sélection de branches axonales par l'inhibition présynaptique pourrait se faire non seulement pour différents pools de motoneurones mais pour activer préférentiellement des interneurones de diverses voies spinales.

Suite à ces observations, Rudomin et ses collaborateurs se sont penchés sur l'organisation des voies des PADs qui pourrait être à l'origine d'une modulation sélective de la transmission proprioceptive dans différentes collatérales d'afférences musculaires. Chez le chat anesthésié, à l'aide de deux microélectrodes, ils observèrent qu'une stimulation intraspinale peut produire une PAD sélectivement dans l'une des deux collatérales. Ceci suggère que les terminaisons sont contactées par des interneurones des PADs distincts. Néanmoins, d'autres exemples montrèrent plutôt qu'une stimulation

intraspinale peut produire une PAD dans les deux collatérales ce qui suggère qu'un même interneurone de dernier-ordre pourrait contacter un nombre restreint de terminaisons et/ou collatérales d'une même afférence et que chacune de ces collatérales pourrait recevoir des synapses de plus d'un interneurone des PADs (Quevedo et al. 1997). Ils mesurèrent ensuite, de façon simultanée, le changement d'excitabilité de deux collatérales d'une même afférence projetant au noyau intermédiaire, suite à diverses stimulations sensorielles et descendantes. Ainsi, il démontrèrent que, bien qu'une source musculaire pouvait produire une PAD de magnitude semblable dans deux collatérales d'une même fibre, la stimulation de sources cutanée ou supraspinale avait le pouvoir d'inhiber cette PAD seulement dans une des deux collatérales (Eguibar et al. 1994, 1997). De telles observations ont aussi été faites sur des collatérales se terminant d'une part, dans le noyau intermédiaire au niveau du segment L6 et d'autre part, dans la colonne de Clarke au niveau L3. De plus, ils montrèrent que l'efficacité d'un input pouvait être renversé suivant une spinalisation par refroidissement de la moelle épinière bloquant ainsi la contribution des inputs descendants à cette action différentielle (Lomeli et al. 1998). Il existerait donc un substrat interneuronal capable d'exercer un contrôle différentiel sur la transmission de deux collatérales d'une même afférence commandé par des signaux supraspinaux et sensoriels. Un tel système permettrait en théorie de contrôler le transfert d'informations sensorielles de façon très focalisée à l'intérieur de la moelle épinière i.e. pour une cible postsynaptique. D'autre part, une étude plus ancienne du même groupe, faite lors de la locomotion fictive chez le chat décérébré, montra que les terminaisons axonales IAs se terminant au noyau intermédiaire, les IAs se projetant au noyau moteur et les terminaisons IBs se terminant au noyau intermédiaire avaient un seul et même patron de modulation phasique d'excitabilité maximale en flexion (Duenas et al 1990). Ainsi, même s'il existe des sous-populations distinctes interneuronales des PADs chez l'animal anesthésié, cela ne veut pas nécessairement signifier que toutes ces sous-populations soient utilisées lors d'un mouvement donné. L'élucidation de cette question fascinante requiert de nombreux travaux supplémentaires.

Finalement, il nous faut noter qu'un contrôle différentiel de la transmission sensorielle pourrait être effectué en bloquant complètement la propagation ou l'invasion de l'influx nerveux dans une branche de l'afférence primaire. En effet, il a été décrit que la propagation de l'influx enregistré dans les branches descendantes des afférences primaires de la colonne dorsale du rat anesthésié est contrôlée par un mécanisme sensible aux antagonistes GABA<sub>A</sub> et donc similaire à celui de l'inhibition présynaptique mais localisé plus proximale sur l'arborisation axonale (Wall 1994, 1995). Des simulations théoriques, basées sur la reconstruction anatomique des collatérales d'une afférence primaire à la colonne de Clarke, ont montré que l'efficacité de tels contacts "pré-présynaptiques" serait restreinte aux embranchements non-myélinisés et permettrait de ségréger le flot d'informations à des branches spécifiques (Walmsley et Nicol 1998). À l'aide de la technique de microscopie confocale, les contacts axo-axoniques GABA-immunoréactifs ont été répertoriés au niveau des collatérales d'une afférence IB du chat et l'étude de leur distribution indique que la plupart sont localisés au niveau des branches distales de l'axone mais qu'ils existe certains contacts localisés à des sites plus proximaux (Lamotte d'Incamps et al 1998) Le sujet fut examiné aussi chez le chat anesthésié où on mesura le seuil d'activation d'une collatérale en L3 pour déterminer si un potentiel d'action qui était évoqué au niveau d'une collatérale en L6 pouvait s'y propager alors qu'on évoquait une PAD. Les données montrèrent que le seuil d'activation en L3 augmentait, suggérant que le potentiel d'action produit en L6 s'était propagé jusque là et qu'il n'y avait donc pas eu de mécanisme de ségrégation de l'input au niveau pré-présynaptique (Rudomin 1999).

### **3. CONSIDÉRATIONS FONCTIONNELLES**

---

Un contrôle localisé de l'inhibition présynaptique à chacune des terminaisons permettrait à l'information proprioceptive d'être dirigée vers des cibles postsynaptiques spécifiques. On sait que l'activation de sous-populations des PADs doit dépendre de la convergence d'inputs descendants, segmentaires (CPG) et sensoriels. On a vu dans la présente étude qu'une seule composante de cette convergence, soit l'interaction entre les inputs musculaires, cutanés et du CPG, et comment sophistiqué est son effet sur la transmission synaptique. Il est tentant d'imaginer que la convergence multiple sur les voies de l'inhibition présynaptique pourrait servir à recruter, ou à désactiver, certaines voies réflexes selon leur utilité à la genèse et au contrôle de la locomotion (cf Hultborn et al. 1987).

Il serait donc très intéressant d'enregistrer le patron des PADs produit dans deux collatérales d'une même afférence projetant à deux cibles distinctes lors de la locomotion fictive. Sans doute une entreprise expérimentale extrêmement difficile parce qu'elle requiert présence de locomotion fictive et la localisation de deux collatérales d'une même afférence. Or, cette localisation simultanée survient une à deux fois dans les meilleurs cas lors d'une journée complète d'expérience (Rudomin, communication personnelle). D'autre part, une organisation de l'inhibition présynaptique selon les cibles postsynaptiques permettrait à quelques interneurons inhibiteurs de contacter une grande partie des terminaisons axonales qui s'y projettent. De cette manière, une grande partie des terminaisons auraient un même patron de modulation. Par ce système, le CPG pourrait contrôler de façon phasique toute, ou une partie de la rétroaction sensorielle se projetant sur un neurone spinal. Pour tester cette hypothèse, il serait intéressant d'enregistrer la modulation des PADs dans les terminaisons de deux ou plusieurs afférences de modalité

différente qui se projettent sur un même neurone. Une telle expérience serait réalisable à l'aide de la technique d'excitabilité intraspinal. La microélectrode localisée aux environs d'un neurone-cible pourrait activer de façon antidromique deux ou plusieurs terminaisons qui sont enregistrées dans les axones en périphérie. Cette expérience ressemble à celle de Duenas et Rudomin (1988) sur les variations spontanées d'excitabilité accompagnant la locomotion des fibres IA et IB dans deux noyaux spinaux. Il s'agit ici d'évoquer en plus des PADs d'origine sensoriel et/ou supraspinal.

Par ailleurs, on sait aussi que plusieurs afférences de différentes modalités sensorielles et de plusieurs voies descendantes convergent au niveau des interneurones spinaux (cf. Baldissera et al. 1981; Jankowska 1992). Or, cette convergence n'est pas fixe mais sujette à être modulée ou sélectionnée selon les tâches motrices à exécuter (Jankowska 2001). L'inhibition présynaptique est le mécanisme de choix pour modeler, ou sculpter, la convergence d'inputs sensoriels. Toutes les terminaisons se projetant à un neurone pourraient, selon le schème proposé, être efficacement contrôlées par quelques interneurones des voies des PADs. Ainsi, le CPG, par exemple, pourrait désactiver un neurone en soustrayant d'un coup toute sa rétroaction sensorielle. Mieux encore, seulement une composante de cette rétroaction (e.g. les afférences de groupe II) pourrait être soustraite, par une augmentation des PADs, ou facilitée, par une diminution des PADs et ce, de manière phasique au cours de la locomotion. En d'autres mots, un interneurone pourrait présenter un patron de convergence très différent selon les mouvements mais aussi selon les phases d'un mouvement. De cette manière, l'emphase pourrait être mise sur un input sensoriel spécifique, celui qui serait le plus pertinent pour façonner l'output moteur dans une phase donnée. Par exemple, la stimulation des afférences musculaires de groupe II peut produire un réflexe de flexion chez un chat décérébré au repos en activant des interneurones dits "de groupe II", alors que la stimulation de ces mêmes afférences au cours de la locomotion fictive induite par la stimulation MLR n'évoque plus

de réponses dans les interneurons de groupe II au niveau L4 qui sont pourtant phasiquement actifs (Shefchyk et al. 1990). Il a été suggéré que cette absence de réponse était due à l'instauration d'une inhibition tonique de ces afférences suivant le changement de connectivité dans la moelle épinière associé aux mouvements locomoteurs (McCrea et Perreault 1998). Changer les patrons de convergence sur un interneurone équivaut à en changer son excitabilité et donc sa fonction. Il serait fascinant de comparer les patrons de convergence d'inputs sensoriels sur les interneurons intercallés dans plusieurs voies réflexes ou ascendantes dans les conditions de repos et de locomotion afin d'évaluer le modelage effectué par l'inhibition présynaptique.

## BIBLIOGRAPHIE

Akazawa K, Aldridge JW, Steeves JD, Stein RB (1982) Modulation of stretch reflexes during locomotion in the mesencephalic cat. *J. Physiol.* 329: 553-567.

Alvarez JF (1998) Anatomical Basis for Presynaptic Inhibition of Primary Sensory Fibers. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.13-49. New York, Oxford University Press.

Alvarez-Leefmans JF, Nani A, Marques S (1998) Chloride Transport, Osmotic Balance and Presynaptic Inhibition In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.50-79. New York, Oxford University Press.

Anden NE, Jukes MGM, Lundberg A, Vyklicky L (1966a) The effect of DOPA on the spinal cord. 1. Influence on transmission from primary afferents. *Acta physiol. scand.* 67: 373-386.

Anden NE, Jukes MGM, Lundberg A (1966b) The effect of DOPA on the spinal cord. 2. A pharmacological analysis. *Acta physiol. scand.* 67: 387-397.

Anden NE, Jukes MGM, Lundberg A, Vyklicky L (1966c) The effect of DOPA on the spinal cord. 3. Depolarization evoked in the central terminals of ipsilateral Ia afferents by volleys in the flexor reflex afferents. *Acta physiol. scand.* 68: 322-336.



Andersson O, Grillner S (1983) Peripheral control of the cat's step cycle II. Entrainment of the central pattern generators for locomotion by sinusoidal hip movements during "fictive locomotion". *Acta Physiol. Scand.* 118: 229-239.

Armstrong DM (1986) Supraspinal contributions to the initiation and control of locomotion in the cat. *Prog. Neurobiol.* 26: 273-361.

Arshavsky YI, Gelfand IM, Orlovsky GN (1984) Cerebellum and rhythmical movements. In: *Studies of brain function.* (Barlow HB, Bullock TH, Florey E, Grüsser OJ, Peters A, eds) pp. 166 New York, Springer-Verlag.

Arshavsky YI, Orlovsky GN, Perret C (1988) Activity of rubrospinal neurons during locomotion and scratching in the cat. *Behav. Brain Res.* 28: 193-199.

Baev KV, Kostyuk PG (1982) Polarization of primary afferent terminals of lumbosacral cord elicited by the activity of spinal locomotor generator. *Neurosci.* 7(6):1401-1409.

Baldissera F, Hultborn H, Illert M (1981) Integration in spinal neuronal systems. In: *Handbook of physiology* (Brookhart JM, Mountcastle VB, eds), pp 509-595. Maryland: Amer.Physiol.Soc.

Beloozerova IN, Rossignol S (1999) Antidromic discharges in dorsal roots of decerebrate

cats.I. Studies at rest and during fictive locomotion. *Brain Res.* 846: 87-105.

Brazier MAB (1984) *A History of Neurophysiology in the 17th and 18th Centurys* New York, Raven Press.

Brazier MAB (1988) *A History of Neurophysiology in the 19th Century* New York, Raven Press.

Brooke JD, Cheng J, Collins DF, McIlroy WE, Misiaszek JE, Staines WR (1997) Sensori-sensory afferent conditioning with leg movement: gain control in spinal reflex and ascending paths. *Prog. in Neurobiol.* 51: 393-421.

Brooke JD, Cheng J, Misiaszek JE, Lafferty K (1995) Amplitude modulation of the soleus H reflex in the human during active and passive stepping movements. *J. of Neurophysiol.* 73.1: 102-111.

Brownstone RM, Gossard JP, Huthborn H (1994) Voltage-dependent excitation of motoneurons from spinal locomotor centres in the cat. *Exp. Brain Res.* 102:34-44.

Brownstone RM, Jordan LM, Kriellaars DJ, Noga BR, Shefchyk SJ (1992) On the regulation of repetitive firing in lumbar motoneurons during fictive locomotion in the cat. *Exp. Brain Res.* 90: 441-455.

Büschges A, El Manira A (1998) Sensory pathways and their modulation in the control of locomotion *Cur. Opi. in neurobiol.* 8:733-739.

Cabelguen, JM (1988) Activity of interneurons mediating Ia reciprocal inhibition of PBSt and RF motoneurons during fictive locomotion in the thalamic cat. Annual meeting of ENA Zurich , pp 266.

Cattaert D, El Manira A (1999) Shunting versus inactivation: analysis of presynaptic inhibitory mechanisms in primary afferents of the crayfish. *J. Neurosci.* 19: 6079-6089.

Cattaert D, Libersat F, El Manira A (2001) Presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents of the crayfish: A computational and experimental analysis. *J. Neurosci* 21(3): 1007-1021.

Cohen AH (1992) The Role of Heterarchical Control in the Evolution of Central Pattern Generators. *Brain Behav. Evol.* 40: 112-124.

Conway BA, Hultborn H, Kiehn O (1987) Proprioceptive input resets central locomotor rhythm in the spinal cat. *Exp. Brain Res.* 68: 643-656.

Curtis DR (1998) Two Types of Inhibition in the Spinal Cord. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.150-161. New York, Oxford

University Press.

Degtyarenko AM, Simon ES, Norden-Krichmar T, Burke RE (1998) Modulation of oligosynaptic cutaneous and muscle afferent reflex pathways during fictive locomotion and scratching in the cat. *J. Neurophysiol.* 79: 447-463.

Drew T (1991) The role of the motor cortex in the control of gait modification in the cat . In: Shimamura M, Grillner S, Edgerton VR (eds) *Neurobiological basis of human locomotion.* pp 201-212, Tokyo, Japan Scientific Societies Press.

Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1985) Rhythmic antidromic discharges of single primary afferents recorded in cut dorsal root filaments during locomotion in the cat. *Brain Res.* 359(1-2):375-8

Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1988) Rhythmic fluctuations of dorsal root potentials and antidromic discharges of primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J. Neurophysiol.* 60: 2014-2036.

Duenas SH, Loeb GE, Marks WB (1990) Monosynaptic and dorsal root reflexes during locomotion in normal and thalamic cats. *J. Neurophysiol.* 63: 1467-1476.

Duenas SH, Rudomin P (1988) Excitability changes of ankle extensor group Ia and Ib

fibers during fictive locomotion in the cat. *Exp. Brain Res.* 70: 15-25.

Duysens J, Pearson KG (1980) Inhibition of flexor burst generation by loading ankle extensor muscles in walking cats. *Brain Res.* 187: 321-332.

Eccles JC, Eccles R, Magni F (1961) Central inhibitory action attributable to presynaptic depolarisation produced by muscle afferent volleys. *J. Physiol.* 159: 147-166.

Eccles JC, Krnjevic K (1959) Potential changes recorded inside primary afferent fibres within the spinal cord *J. Physiol.* 149: 250-273.

Eccles JC, Schidt R, Willis WD (1963) Pharmacological studies on presynaptic inhibition *J. Physiol.* 168: 500-530.

Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I, Rudomin P (1994) Selective cortical control of information flow through different intraspinal collaterals of the same muscle afferent fiber. *Brain Res.* 643: 328-333.

Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I, Rudomin P (1997) Selective cortical and segmental control of primary afferent depolarization of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res.* 113: 411-430.

Enriquez M, Jiménez I, Rudomin P (1996) Segmental and supraspinal control of synaptic effectiveness of functionally identified muscle afferents in the cat. *Exp. Brain Res.* 107: 391-404.

El Manira A, Parker D, Krieger P, Wikstrom M, Grillner S (1998) Presynaptic inhibition of synaptic transmission from sensory, interneuronal, and supraspinal neurons to spinal target cells in lamprey. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.329-350. New York, Oxford University Press.

Faist M, Dietz V, Pierrot-Deseilligny E (1996) Modulation, probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait. *Exp. Brain Res.* 109:441-449.

Fung J, Barbeau H (1994) Effects of conditioning cutaneous stimulation on the soleus H-reflex in normal and spastic paretic subjects during walking and standing. *J. Neurophysiol.* 72(5): 2090-2104.

Gosgnach S, Quevedo J, Fedirchuck B, McCrea DA (2000) Depression of group Ia monosynaptic EPSPs in cat hindlimb motoneurons during fictive locomotion. *J. Physiol.* 526(3): 639-652.

Gossard J-P (1996) The control of transmission in muscle group IA afferents during fictive locomotion in the cat. *J. Neurophysiol.* 76: 4104-4112.

Gossard J-P, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of dorsal root potentials evoked by peripheral nerve stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res.* 537: 1-13.

Gossard, J.-P., Bouyer, L. and Rossignol, S. (1999) The effects of antidromic discharge on the orthodromic firing of primary afferents in the cat. *Brain Res.* 825: 132-145.

Gossard J-P, Brownstone RM, Barajon I (1994) Transmission in a locomotor-related group 1b pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. *Exp. Brain Res.* 98: 213-228.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1990) Phase-dependent modulation of primary afferent depolarization in single cutaneous primary afferents evoked by peripheral stimulation during fictive locomotion in the cat. *Brain Res.* 537:14-23.

Gossard J-P, Cabelguen J-M, Rossignol S (1991) An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J. Neurophysiol.* 65: 914-926.

Grillner S (1981) Control of locomotion in bipeds, tetrapods and fish. In: *Handbook of Physiology, The nervous system II* (Brookhart JM, Mountcastle VB eds), pp 1179-1236. Maryland: Amer. Physiol. Soc.

Grillner S, Rossignol S (1978) On the initiation of the swing phase of locomotion in chronic

spinal cats. *Brain Res.* 146: 269-277.

Grillner S, Zangger P (1975) How detailed is the central pattern generation for locomotion? *Brain Res.* 88: 367-371.

Grillner S, Zangger P (1979) On the central generation of locomotion in the low spinal cat. *Exp. Brain Res.* 34: 241-261.

Guertin P, Angel MJ, Perreault MC, McCrea A (1995) Ankle extensor group I afferents excite extensors throughout the limb during fictive locomotion in the cat. *J. Physiol.* 487.1: 197-209.

Hiebert GW, Pearson KG (1999) Contribution of sensory feedback to the generation of extensor activity during walking in the decerebrate cat. *J. Neurophysiol.* 81: 758-770.

Hiebert GW, Whelan PJ, Prochazka A, Pearson KG (1996) Contribution of hind limb flexor muscle afferents to the timing of phase transitions in the cat step cycle. *J. Neurophysiol.* 75: 1126-1137.

Hounsgaard J, Hultborn H, Jespersen J, Kiehn O (1988) Bistability of alpha-motoneurons in the decerebrate cat and in the acute spinal cat after intravenous 5-hydroxytryptophan. *J. Physiol.* 405: 345-367.



Hultborn H (2001) State dependent modulation of sensory feedback. *J. Physiol.* 533.1: 3-13.

Hultborn H, Illert M, Nielsen J, Paul A, Ballegaard M, Wiese H (1996) On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects. *Exp. Brain Res.* 108: 450-462.

Hultborn, H, Meunier S, Pierrot-Deseilligny E, Shindo M (1987) Changes in presynaptic inhibition of Ia fibres at the onset of voluntary contraction in man. *J. Physiol.* 389: 757-772.

Hultborn H, Nielsen J (1998) Modulation of transmitter release from Ia afferents by their preceding activity—a "postactivation depression" *Presynaptic Inhibition and Neural Control* Chap. 10 pp-178.

Jankowska E (1992) Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Prog. Neurobiol.* 38: 335-378.

Jankowska E (2001) Spinal interneuronal systems: identification, multifunctional character and reconfiguration in mammals. *J. Physiol.* 533.1: 31-40.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967a) The effect of DOPA on the spinal cord. V. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha

motoneurons of flexors and extensors. *Acta Physiol. Scand.* 70: 369-388.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967b) The effect of DOPA on the spinal cord. VI. Half-centre organization of interneurons transmitting effects from the flexors reflex afferents. *Acta Physiol. Scand.* 70: 389-403.

Jankowska E, McCrea D, Rudomin P, Sykova E. (1981) Observations on neuronal pathways subserving primary afferent depolarization *J. Neurophysiol.* 46(3): 506-515.

Jeannerod M (1983) *Le Cerveau-Machine. Physiologie de la volonté.* Paris, Librairie Artheme Fayard.

Jiménez I (1984) Specific and nonspecific mechanisms involved in generation of PAD of group Ia afferents in the spinal cord *J. Neurophysiol.* 52: 921-939.

Kandel ER, Schwartz H, Jessell TM (2000) *Principles of neural science.* Fourth edition. New York, McGraw-Hill

Kiehn O (1991) Plateau potentials and active integration in the "final common pathway" for motor behavior. *TINS* 14: 68-73.

Koketsu K (1956) Intracellular potential changes of primary afferent nerve fibers in spinal cords of cats. *J. Neurophysiol.* 19: 375-392.

Kolta A, Lund JP, Westberg KG, Clavelou P (1995) Do muscle-spindle afferents act as interneurons during mastication? *TINS* 18(10): 441.

Kravitz S, Fedirchuk B, Dai Y, Jordan LM, McCrea A (2001) State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneurone excitability during fictive locomotion in the cat. *J. Physiol.* 532.1: 271-281.

Kremer E, Lev-Tov A, (1998) GABA-Receptor-independent dorsal root afferents depolarisation in the neonatal rat spinal cord. *J. Neurosci.* 79(5)

LaBella LA, McCrea DA (1990) Evidence for restricted central convergence of cutaneous afferents on an excitatory reflex pathway to medial gastrocnemius motoneurons. *J. Neurophysiol.* 64: 403-412.

Lamotte d'Incamps B, Destombes J, Thiesson D, Hellio R, Lassere X, Kouchtir-Devanne N, Jami L, Zytnicki D (1998) Indications for GABA-immunoreactive axo-axonic contacts on the intraspinal arborization of a IB fiber in the cat: a confocal microscope study. *J. Neurosci.* 18: 10030-10036.

Lin T-B, Fu T-C, (1998) Can antidromic stimulation of rat muscle afferents modulate the sensibility of muscle spindles? *Neurosci. Lett.* 240: 85-88.

Lomeli J, Quevedo J, Linares P, Rudomin P (1998) Local control of information flow in segmental and ascending collaterals of single afferents. *Nature* 395(6702): 600-604.

Lundberg A (1979) Multisensory Control of Spinal Reflex Pathways. *Prog. in Brain Res.* 50: 11-29.

Lüsher HR (1998) Control of Action Potential invasion into Terminal Arborizations. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp-126-137. New York, Oxford University Press.

Madrid J, Alvarado J, Dutton H, Rudomin P (1979) A method for the dynamic continuous estimation of excitability changes of single fiber terminals in the central nervous system. *Neurosci. Lett.* 11: 253-258.

Marder E, Calabrese RL (1996) Principles of Rythmic Motor Pattern Generation. *Physiol. Rev.* 76: 687-717.

McCrea DA (1992) Can sense be made of interneuron circuits? *Behav. & Brain Sc.* 15: 633-643.

McCrea DA (1998) Neuronal basis of afferent-evoked enhancement of locomotor activity. In: Neuronal mechanisms for generating locomotor activity (Kiehn O, Harris-Warrick RM, Jordan LM, Hultborn H, Kudo N, eds), pp 216-225. New York: The New York Academy of Sciences.

McCrea DA (2001) Spinal circuitry of sensimotor control of locomotion. *J. Physiol.* 533.1: 41-50.

McCrea DA et Perreault MC (1998) PAD and modulation of group II evoked flexion reflexes during MLR evoked fictive locomotion. In: Presynaptic Inhibition and Neural Control (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.366-384. New York, Oxford University Press.

McCrea DA, Shefchyk S J, Stephens M J, Pearson KG (1995) Disynaptic group I excitation of synergist ankle extensor motoneurons during fictive locomotion in the cat. *J. Physiol. (Lond)* 487: 527-539.

Misiaszek JE, Brooke JD, Lafferty KB, Cheng J, Staines WR (1995) Long-lasting inhibition on the human soleus H reflex pathway after passive movement. *Brain res.* 677: 69-81.

Nicoll RA, Alger BE (1979) Presynaptic inhibition: transmitter and ionic mechanisms. *Int. Rev. Neurobiol.* 21: 217-258.

Nusbaum MP, El Manira A, Gossard JP, Rossignol S (1997) Presynaptic mechanisms during rhythmic activity in vertebrates and invertebrates, in: PSG Stein S Grillner AI Selverston DG Stuart (Eds.), *Neurons, Networks and motor behavior*, pp. 237-253 London, MIT Press.

Orlovsky GN (1972) Activity of vestibulospinal neurons during locomotion. *Brain Res.* 46: 85-98.

Pearson KG (1995) Proprioceptive regulation of locomotion. *Cur Opin Neurobiol.* 5: 786-791.

Pearson KG, Duysens J (1976) Function of segmental reflexes in the control of stepping in cockroaches and cats. In: *Neural control of locomotion* (Herman RM, Grillner S, Stein S, Stuart DC, eds), pp. 529-537. New York, Plenum Press.

Pearson KG, Misiaszek JE, Fouad K (1998) Enhancement and resetting of locomotor activity by muscle afferents. In: *Neuronal mechanisms for generating locomotor activity* (Kiehn O, Harris-Warrick RM, Jordan LM, Hultborn H, Kudo N, eds), pp 203-215. New York, The New York Academy of Sciences.

Perreault M-C, Angel MJ, Guertin P, McCreia DA (1995) Effects of stimulation of hindlimb flexor group II afferents during fictive locomotion in the cat. *J.Physiol.(Lond)* 487: 211-220.

Perret C, Cabelguen JM (1980) Main characteristics of the hindlimb locomotor cycle in the decorticate cat with special reference to bifunctional muscles. *Brain Res.* 187: 333-352.

Prochazka A, Clarac F, Loeb GE, Rothwell JC, Wolpaw J (1999) What do reflex and voluntary mean? Modern views on an ancient debate. *Exp. Brain Res.* 130(4):417-32

Prochazka A, Deborah G, Bennet DJ (1997) Implications of positive feedback in the control of movement. *J. Neurophysiol.* 77: 3237-3251.

Quevedo J, Equibar JR, Lomeli J, Rudomin P (1997) Patterns of connectivity of spinal interneurons with single muscle afferents. *Exp. Brain Res.* 115: 387-402.

Redman SF (1998) The relative contributions of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors to presynaptic inhibition of group Ia EPSPs. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.162-177. New York, Oxford University Press.

Rossignol S (1996) Neural control of stereotypic limb movements. In: *Handbook of physiology, Exercise: Regulation and integration of multiple systems*, sect.12, pp 173-216. Bethesda MD: Am Physiol Soc.

Rudomin P (1999) Selectivity of presynaptic inhibition: a mechanism for independent control of information flow through individual collaterals of single muscle spindle afferents. *Prog. in Brain Res.* 123: 109-117.

Rudomin P, Jimenez I, Solodkin M, Duenas S (1983) Sites of action of segmental and descending control of transmission on pathways mediating PAD of IA and IB afferent fibers in cat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 50(4):743-769.

Rudomin P, Schmidt RF (1999) Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp. Brain Res.* 129:1-37.

Rudomin P, Solodkin M, Jiménez I (1986) PAD and PAH response patterns of group IA- and Ib fibers to cutaneous and descending inputs in the cat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 56(4):987-1006.

Rudomin P, Solodkin M, Jiminez I (1987) Synaptic potentials of primary afferent fibers and motoneurons evoked by single intermediate nucleus interneurons in the cat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 57(5): 1288-1313.

Schmidt RF (1971) Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. *Ergebn. Physiol.* 63:20-101.

Severin FV (1970) The role of the gamma motor system in the activation of the extensor alpha motor neurones during controlled locomotion. *Biophysics* 15: 1138-1145.

Shefchyk S, McCrea D, Kriellaars DJ, Fortier P, Jordan LM (1990) Activity of interneurons within the L4 spinal segment of the cat during brainstem-evoked fictive locomotion. *Exp Brain Res* 80: 290-295.

Shik ML, Severin FV, Orlovsky GN (1966) Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mid-brain. *J. Vestib. Res.* 11: 750-757.

Simonsen EB, Dyhre-Poulsen P (1999) Amplitude of the human soleus H reflex during walking and running. *J. Physiol.* 515: 929-939.

Stein PSG (1999) Central pattern generators and interphyletic awareness. *Prog. in Brain*



Res. 123: 259-271.

Stein RB, Capaday C (1988) The modulation of human reflexes during functional motor tasks. *TINS* 11:328-332.

Stein PSG, McCullough ML, Currie SN (1998) Spinal motor patterns in the turtle In: Neuronal mechanisms for generating locomotor activity (Kiehn O, Harris-Warrick RM, Jordan LM, Hultborn H, Kudo N, eds), pp 142-152. New York: The New York Academy of Sciences.

Vyklicky L, Knotkova-Urbancova H (1998) Primary Afferent Depolarization and Presynaptic Inhibition In: Presynaptic Inhibition and Neural Control (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) Chap.5. New York, Oxford University Press.

Wall PD (1958) Excitability changes in afferent fiber terminations and their relations to slow potentials *J. Physiol.* 142:1-21.

Wall PD (1994) Control of impulse conduction in long range afferents. *Eur. J. Neurosci.* 6:1136-1142.

Wall, P.D., (1995). Do nerve impulses penetrate terminal arborizations? A pre-presynaptic control mechanism. *Trends Neurosci.* 18: 99-103.

Walmsley B et Nicol MJ (1998) Action potential propagation along primary afferents and presynaptic inhibition in Clarke's column of the spinal cord. In: Presynaptic Inhibition and Neural Control (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.138-149. New York, Oxford University Press.

Westberg KG, Kolta A, Clavelou P, Sandstrom G, Lund JP. (2000) Evidence for functional compartmentalization of trigeminal muscle spindle afferents during fictive mastication in the rabbit. *Eur. J. Neurosci.* 12(4): 1145-54.

Willis Jr WD (1999) Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Exp. Brain Res.* 124: 395-421.

Wolf H, Burrows M (1995) Proprioceptive sensory neurons of a locust leg receive rhythmic presynaptic inhibition during walking. *J. Neurosci.* 15: 5623-5636.

Yang JF, Whelan PJ (1993) Neural mechanisms that contribute to cyclical modulation of the soleus H-reflex in walking in humans. *Exp. Brain Res.* 95:547-556.

Zynicky D, Jami L, (1998) Presynaptic inhibition can act as a filter of input from tendon organs during muscle contraction. In: *Presynaptic Inhibition and Neural Control* (Rudomin P, Romo R, Mendell LM, eds) pp.303-314. New York, Oxford University Press.